

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

LA PHAGOCYTOSE

par M. NICOLLE et E. CÉSARI.

Dans nos travaux sur les toxines, les antigènes et les anticorps..., il n'a pas été fait directement mention de la phagocytose. Un tel mutisme pouvant paraître plus que singulier, nous exposons aujourd'hui brièvement la manière dont on doit, selon nous, concevoir cette question, en dehors de toute idée finaliste et de toute tendance anthropomorphique.

VUE D'ENSEMBLE DE LA PHAGOCYTOSE

On désigne, sous le nom de phagocytose (Metchnikoff), le phénomène en vertu duquel certaines cellules, mobiles ou fixes, englobent et dissolvent (quand elles sont assimilables) les fines particules inorganiques, organiques et organisées. Ce phénomène se trouve lié à l'absence, totale ou partielle, de membrane limitante, à la mobilité, totale ou partielle (dit-on inexactement) et à la présence d'enzymes appropriés. Habituellement, la phagocytose traduit l'incorporation et la digestion, soit d'éléments anatomiques, soit de microbes.

Caractères principaux des phagocytes.

Les cellules, mentionnées précédemment, sont appelées phagocytes. Parmi les protistes, tous ceux qui revêtent (ne

fût-ce que temporairement) la forme amibienne appartiennent à cette catégorie. Chez les plantes, divers éléments, aux parois denses, peuvent digérer les parasites qui les ont envahis « activement »; on les nomme parfois phagocytes, expression évidemment abusive. Chez les animaux (métazoaires) inférieurs, la propriété dont nous parlons est très répandue dans l'économie; quand on remonte l'échelle des invertébrés, on la voit disparaître, d'abord de l'ectoderme, puis, tardivement, de l'entoderme. Chez les vertébrés, sauf le cas (particulier) des éléments nerveux, les phagocytes ne comprennent guère que des représentants du mésoderme; comme types mobiles : les leucocytes du sang et de la lymphe (mono- et polynucléaires surtout — point les lymphocytes), les gros mononucléaires des organes lymphoïdes et de la moelle osseuse, les myéloplaxes de cette dernière — comme types fixes : les endothéliums vasculaires, principalement. Les phagocytes libres peuvent s'aggrémérer en plasmodes. Ceux-ci constituent l'une des origines des cellules géantes, mais non la seule; la question est d'ailleurs très complexe.

On envisagera, ici (sauf avis contraire), la phagocytose chez les vertébrés, notamment les animaux de laboratoire et l'homme. Passant sur la structure et l'origine de ses agents, nous rappellerons leurs caractéristiques physiologiques principales et nous prendrons comme types les cellules libres. Chacun sait que ces éléments réagissent non seulement aux influences mécaniques, mais encore aux influences chimiques. Massart et Bordet, Gabritchewsky ont montré que des tubes capillaires, remplis de diverses substances et introduits dans le péritoine ou sous la peau des animaux, offrent, après quelque temps, un « bouchon leucocytaire », qui fait défaut si l'on anesthésie le sujet. Leber avait observé semblable apparence, dans la chambre antérieure de l'œil du lapin (tubes, contenant des extraits de staphylocoque). Des expériences analogues ont été souvent répétées avec succès. Donc, les leucocytes de l'économie peuvent se transporter vers des solutions variées — et, bien plus fréquemment, vers des particules, notamment des microbes (vivants ou non). Ils doivent, avant cela, traverser ordinairement la paroi capillaire saine. Ce phénomène, la diapédèse de Cohnheim, est, lui aussi, entravé par l'anesthésie. Lorsque des

microbes, soit morts, soit peu virulents, sont portés dans les tissus, les vaisseaux se dilatent, la circulation devient plus lente et les globules blancs passent, tôt ou tard, *loco læso*, s'accumulant près des micro-organismes, qu'ils englobent d'ordinaire le moment venu. La quantité des leucocytes circulants tend à diminuer, mais l'équilibre se rétablit couramment (et au delà), parce que de nouveaux éléments sortent du système lymphoïde, dont l'action formatrice augmente. On observe, d'habitude, une baisse initiale des leucocytes (locaux et sanguins), laquelle simule une destruction inexistante; ainsi, lors d'injection intrapéritonéale, les cellules libres sont refoulées contre les replis séreux, où elles forment de petits amas blanchâtres — lors d'injection intraveineuse, elles se collent sur la paroi des capillaires ectasiés.

On emploie souvent les injections intrapéritonéales de diverses substances, principalement de bouillon, afin d'obtenir, le lendemain, des exsudats riches en leucocytes. Certaines de ces dernières cellules préexistaient dans la séreuse, mais la plupart viennent du sang et y rentrent bientôt *pro parte*. Notons encore que la réaction abdominale fait défaut chez l'animal anesthésié.

Nous aborderons ultérieurement, avec les détails voulus, la question des enzymes que sécrètent les phagocytes.

Phagocytes et inflammation.

La phagocytose, décrite d'abord par Hæckel, puis étudiée par Recklinghausen, Langhans, Kölliker..., a été envisagée, comme phénomène très général, par Metchnikoff. On la rencontre fréquemment, dans la vie normale et pathologique. Normalement : lors de la destruction des éléments usés; pendant les stades successifs de l'évolution; lors des métamorphoses de divers animaux; lors de la résorption de l'os cartilagineux... Anormalement : au cours des procès réactionnels, que caractérise le terme, très élargi aujourd'hui, d'inflammation et au cours de beaucoup d'infections (et infestations). De nombreux cas d'immunité affectent, également, des relations connues avec la phagocytose. Nous laisserons de côté ce qui caractérise la vie normale et nous envisagerons, sans tarder, l'inflammation.

Strictement parlant, il n'y a d'*inflammation* que chez les

tissus animaux pourvus de vaisseaux; on admet, par extension, qu'il y a aussi inflammation chez tout organisme, animal (même sans vaisseaux) et végétal, dont les cellules, fixes ou mobiles, «réagissent» aux causes les plus variées, en sortant de leur état ordinaire et présentent, alors, des hypertrophies, des hyperplasies, des différenciations inhabituelles, des migrations (qu'accompagne souvent la phagocytose). Cette conception, fort vaste, rend assez incertaine la limite entre l'inflammation et les néoplasies — la chose est certainement très fâcheuse. Comme les Anciens le remarquaient justement, on doit séparer l'inflammation des dégénérescences «pures»; il sied, cependant, d'ajouter que l'inflammation (par ses causes et ses effets) provoque toujours des dégénérescences et, qu'inversement, les dégénérescences amènent souvent après elles des actes réactionnels. Tous ces points, importants doctrinalement, n'offrent qu'un intérêt secondaire ici. Résumons, maintenant, les rapports de l'inflammation et de la phagocytose.

Les migrations des cellules mobiles et l'englobement éventuel consécutif se rencontrent chez les invertébrés dépourvus de vaisseaux et chez les tissus invasculaires des autres animaux, comme conséquence de la présence insolite de substances variées, notamment de particules inertes ou vivantes. Les cellules mobiles accumulées périssent, soit en partie, soit totalement. Dans le second cas, il se produit une collection (abcès, *largo sensu*). Dans le premier, les éléments morts seront repris par des éléments bien vivants de même nature; parmi les éléments saufs, certains pourront retourner vers les régions d'où ils émanent, mais la majorité se transformera en cellules fixes.

Chez les animaux et tissus vasculaires, surtout chez les vertébrés supérieurs, les phagocytes interviennent fréquemment. Il faut cependant distinguer. Dans les procès congestifs (volontiers accompagnés d'exsudation séreuse), dans les catarrhes muqueux, dans les œdèmes aboutissant à la nécrose, dans les manifestations pseudo-membraneuses, leur rôle n'est pas de premier plan — dans les catarrhes purulents, les bourbillons, abcès et granulomes, il se révèle au contraire fort notable. Dans la genèse des scléroses, cellules locales et cellules émigrées ont leur part, différente selon les circonstances.

On doit se représenter l'inflammation proprement dite comme, avant tout, une réaction vasculaire, commandant l'issue du plasma et des leucocytes. Le rôle de ces derniers varie beaucoup, suivant les modalités qualitatives et quantitatives de la phagocytose; leur sort n'est pas moins divers. Donnons quelques exemples. Dans les bourbillons, l'exsudat fibrino-leucocytaire se trouve mortifié en bloc; dans les abcès, chaque globule blanc sera nécrosé isolément; dans les granulomes, les phagocytes engendrent les éléments épithélioïdes et (partiellement) les cellules géantes. Toujours, une quantité plus ou moins grande des leucocytes périra et la fraction non évacuée au dehors deviendra la « proie » des mononucléaires; toujours, il y aura production d'éléments conjonctifs, aux dépens de certains globules blancs épanchés; parfois, enfin, on verra la diapédèse « inverse » marquer le retour de cellules mobiles, ordinairement peu abondantes, en pleine circulation. Les réactions se combinent à l'infini, lors d'inflammation chronique.

Phagocytose et infection.

Quels sont, chez les animaux, les rapports de la phagocytose et de l'*infection*? Pour le savoir, demandons-nous où se développent les divers types de microbes. Les protozoaires habitent, communément, des cellules extramésodermiques; il faut, cependant, faire une exception pour les trypanosomes et surtout les *leishmaniæ*, tantôt libres, tantôt intraphagocytaires. Les champignons et les bactéries (dont il sera uniquement question maintenant) peuvent croître dans les humeurs ou dans les phagocytes; cela dépend, avant tout, de leur virulence et de la résistance de l'hôte. Il est des parasites qui « affectionnent » les humeurs, tels les spirilles de la fièvre récurrente; ces germes s'y développent électivement; la vie intracellulaire ne constitue pour eux qu'un mode de conservation aléatoire. D'autres organismes mènent l'existence intra-humorale en proportion directe de leur virulence; plus celle-ci baisse, plus on les voit dans les phagocytes et moins ils « s'y trouvent bien » (pneumocoque, streptocoque, *pasteurellæ*...). Enfin, certains microbes ne peuvent guère vivre qu'englobés; on les décèle, éventuellement, dans le sang (par les cultures),

mais ils sont incapables de s'y multiplier (méningocoque, gonocoque, staphylocoque...); il faut, alors, parler de bactériémie et non de septicémie, cette dernière expression signifiant : croissance au sein des humeurs; parmi les parasites dont nous parlons, on compte la plupart des agents des infections chroniques (tuberculose, lèpre, morve...). On nous objectera, immédiatement, que tous les microbes pyogènes peuvent se rencontrer libres dans le pus, où souvent ils pullulent; nous répondrons que le pus n'est point une humeur normale et que l'abondance des germes dans ce liquide suit, *pari passu*, la fonte leucocytaire. Les pus constituent de vrais milieux artificiels, créés par cette fonte. — Un type assez spécial est celui que représente le bacille du rouget (et « consorts »), lequel habite les leucocytes et l'endothélium vasculaire; suivant sa virulence et la sensibilité du sujet, éclatent des accidents aigus ou chroniques. — Somme toute, l'englobement, pour les parasites qui le provoquent, tantôt aboutit à une mort rapide, suivie de digestion, tantôt permet une existence de « qualité » et de durée variables.

Quelques détails, maintenant. Commençons par les infections aiguës. La maladie peut demeurer purement locale, divers microbes se révélant incapables d'essaimer au loin (tel, le bacille du chancre mou). Parasites de faible activité, l'économie leur devient de plus en plus hostile et ainsi survient la guérison (nous verrons, ultérieurement, le sens du mot hostile). Ailleurs, on observe une infection locale, compliquée de « métastases » (par bactériémie), fait très commun et dû à ce que la virulence dépasse, ici, comme intensité, celle des agents mentionnés précédemment. Un pas encore et nous avons la septicémie (par généralisation sanguine d'emblée ou lymphatique, puis sanguine), le développement libre et exubérant au sein des humeurs, révélateur de la « grande virulence ». En injectant certains germes (streptocoque, pneumocoque, vibrion cholérique...) dans le péritoine du cobaye, on détermine (selon leur activité — et leur dose, pour la même activité) des infections locales ou générales; pour les premières, les microbes se trouvent rapidement englobés et détruits; pour les secondes, l'englobement, tardif et incomplet, laisse la majorité des parasites végéter hors des leucocytes et

franchir les vaisseaux. Ces germes, très actifs, n'impressionnent nullement les globules blancs, qui s'incorporent alors, sans difficulté, d'autres microbes (avirulents ou peu virulents) qu'on leur offre. Que dire des infections toujours sanguines (fièvre récurrente)? Les spirilles commencent par se multiplier dans le sang, déterminant l'accès caractéristique. Quand les humeurs deviennent hostiles au parasite, il y périt et la maladie prend fin, à moins que quelques individus ne se soient conservés dans les phagocytes des organes lymphoïdes. Certains d'entre ces individus fournissent alors une nouvelle génération sanguicole — et ainsi de suite (mais pas longtemps). On va, sans doute, nous faire la remarque suivante : la fièvre récurrente n'est point parmi les maladies fort graves et cependant, d'après votre conception, cette « septicémie d'emblée » révèle, chez son agent, une virulence notable. Voici ce que nous répondrons : les termes virulence — et résistance — expriment des propriétés intimement liées; c'est l'« intensité de l'infection » qui traduit cliniquement leur rapport, pour chaque cas particulier. A résistance constante *seulement*, la virulence peut se mesurer avec rigueur — à virulence constante *seulement*, la résistance. Autrement, on ne saurait apprécier, répétons-le, que l'intensité de l'infection. Dans la récurrente, cette intensité demeure, d'ordinaire, peu considérable; la virulence du spirille doit être tenue pour marquée (par analogie avec celle des parasites tantôt libres, tantôt intraphagocytaires), mais la résistance de l'organisme est (et surtout devient vite) très haute.

Nous ne pouvons esquisser, même superficiellement, l'histoire des infections chroniques. Ici, les parasites habitent les éléments phagocytaires. Ils se généralisent, plus ou moins, par les voies lymphatique et sanguine. Les altérations qu'ils provoquent sont, tantôt de nature progressive (inflammations variées, tendant à la sclérose), tantôt de nature régressive (caséification, ramollissement). Parfois, ils semblent se conserver longtemps au sein des cellules qui les hébergent; on observe alors un état d'équilibre, identique à celui que les Auteurs appellent ailleurs symbiose. D'autant que, dans les granulomes, les microbes, soit englobés, soit entourés par les cellules géantes ou épithélioïdes, présentent volontiers des

modifications morphologiques, qui sont manifestement la conséquence de la « vie associée » avec les éléments de l'économie (actinomycose, botryomycose, certaines formes de tuberculose...). Mais de tels états d'équilibre, du reste précaires, ne comptent pas auprès des désordres qui traduisent l'activité des germes pathogènes. — Quelle est la cause de la chronicité des infections ? Certains parasites ne déterminent réellement que des maladies lentes : il faut surtout incriminer leur virulence médiocre ; d'autres engendrent, selon les cas, des maladies aiguës ou chroniques : il faut voir, dans la résistance variable de l'organisme, la raison principale des différences de rapidité observées. — On dira ici fort peu de chose de l'*infestation* (gros parasites animaux), où la phagocytose se manifeste surtout par l'accumulation de cellules mobiles autour de l'agent morbide. Ainsi se produisent des enkystements, dont l'évolution diffère suivant les circonstances. — Au début de ce travail, nous avons rappelé que certaines cellules végétales digèrent les microbes qui les ont envahies « activement » ; il s'agit de filaments mycéliens (*mycorrhizes*). Nous avons ajouté que le nom de phagocytes, donné à ces éléments, nous paraissait abusif ; il ne concorde pas, en effet, avec la définition admise depuis Metchnikoff. Quel que soit l'intérêt des faits, les définitions ont aussi le leur et ne sauraient être constamment élargies, donc rendues plus vagues. Qu'on se rappelle le cas de l'inflammation. Il sied, toutefois, de retenir la digestion intracellulaire indiquée, dont les causes restent encore douteuses, bien que vraisemblables (action d'enzymes, succédant à une action d'anticorps) et dont les effets se traduisent par la destruction éventuelle du champignon.

Phagocytose et immunité.

Examinons, maintenant, les relations de la phagocytose et de l'immunité (chez les animaux), nous limitant au cas des parasites et de leurs poisons spécifiques (toxines). L'immunité (état réfractaire, indifférence) tient : tantôt, à ce qu'*in vivo* le parasite ne trouve point les aliments qui lui sont nécessaires et le poison, les substances qu'il est capable d'attaquer — tantôt, à ce que l'organisme détruit le premier et « neutralise »

le second — tantôt, enfin, à ce que les deux causes agissent de concert. Pratiquement, la distinction peut rester malaisée et l'on connaît mieux les facteurs dont la présence se montre efficace (notamment les anticorps) que les facteurs dont l'absence amène l'état réfractaire.

Commençons par l'immunité contre les champignons et surtout les bactéries (nous dirons ensuite un mot des protozoaires). Cette immunité se montre, suivant les cas, *naturelle* ou *acquise*. Etudions, d'abord, la résistance acquise, qui, seule, explique la résistance naturelle. On vaccine, d'ordinaire, un animal, en lui administrant des germes soit vivants, soit morts. Cette *immunité*, dite *active*, peut être poussée très loin, quand on répète l'opération et que l'on augmente progressivement les doses : le sujet sera alors qualifié d'hyperimmunisé. Supposons, à présent, une injection intraperitoneale des germes septicémiques indiqués plus haut ; on introduit la quantité sûrement mortelle, chez le cobaye neuf et le cobaye vacciné : chez le neuf, tableau connu ; chez le vacciné (sauf au cas de narcose), même apparence que lors de l'emploi d'une dose totalement inoffensive. Donc, ici, les parasites sont englobés par les phagocytes et y disparaissent totalement quand l'immunité est suffisante. Cependant, s'il s'agit de résistance très forte et de microbes fragiles, l'organisme peut réagir sur eux hors des cellules ; on observe alors des changements d'aspect (ainsi, la transformation des vibrions en granules), la mort et (plus rarement) la dissolution complète des parasites. Il résulte nettement de là qu'une même cause doit commander à la destruction intra- et extracellulaire. Quelle cause ? Examinons le sérum des individus vaccinés (et surtout hypervaccinés) contre les germes dont nous avons déjà parlé. Ce sérum offre des propriétés aujourd'hui classiques. *In vivo*, il confère l'immunité (et, éventuellement, l'hypersensibilité) aux animaux neufs. *In vitro* (chauffé), il agglutine les microbes, précipite leurs extraits et fixe le complément en leur présence ; il peut également (quand il est frais), modifier la forme des germes, les tuer et les attaquer (ces derniers effets sont encore moins marqués que dans l'organisme, où les agents nécessaires se renouvellent sans discontinuer) ; il détermine enfin (comme *in vivo*), la phagocytose, ainsi que nous le verrons plus tard.

Les substances néoformées, auxquelles les humeurs (et, partant, l'économie) doivent d'être devenues « hostiles » vis-à-vis des microbes, substances de nature inconnue, ont été appelées anticorps. Nous avons indiqué, ailleurs (*Annales de l'Institut Pasteur*, juin 1922), quelle conception on pouvait s'en faire provisoirement. Donc, pour les cas cités, l'immunité conférée par les sérums (*immunité passive*) reconnaît comme cause l'introduction des anticorps; l'immunité active, naturellement, la production de ceux-ci. Mais, lorsque la résistance n'a pas été poussée très loin, les humeurs ne semblent point toujours contenir d'anticorps et, lorsque la vaccination date de quelque temps, les substances « protectrices » s'évanouissent en apparence. Certains auteurs infèrent de là qu'elles représentent de simples conséquences de l'immunité et non ses agents véritables. Inutile de discuter une telle opinion. Il faut cependant indiquer pourquoi nous faisons intervenir des substances *que nous ne voyons pas*. Nous ne pouvons les voir, évidemment, qu'autant que nos méthodes le permettent, et ces méthodes restent encore bien imparfaites. Qu'on immunise des animaux : les anticorps apparaîtront dès que la technique saura les déceler ; ils ne naîtront point subitement ; la veille du jour où ils deviennent appréciables, ils existaient certainement. De même, pour leur disparition ; comment admettre qu'ils passent brusquement d'une valeur définie à zéro ? D'ailleurs, le sujet, pauvre en anticorps, ne se trouve pas « démunis » ; ces substances se régénèrent sans arrêt et, après peu de temps, leur quantité suffit souvent pour la destruction des parasites. Celle-ci se montre d'autant plus lente et plus intracellulaire que les anticorps sont sécrétés moins abondamment. Tel est précisément le cas, dans l'immunité naturelle. Où s'élaborent les anticorps ? On l'ignore. Le fait que les phagocytes digèrent les microbes a suggéré l'idée qu'ils engendrent, par cela même, les substances « protectrices » ; mais il convient de remarquer qu'on ne voit pas quel rôle peut jouer la phagocytose, lorsqu'il s'agit d'« antigènes solubles » : toxines, humeurs, extraits bactériens clairs « comme de l'eau » ; or, de tels antigènes déterminent, savons-nous, la formation d'anticorps excessivement actifs. La question reste donc ouverte.

En provoquant des exsudats intra-abdominaux chez diverses espèces animales, on leur permet de supporter la dose mortelle de certains germes ; on « escamote » ainsi l'infection, sans créer d'état réfractaire. Le mécanisme du phénomène nous paraît simple : anticorps normaux et globules blancs affluent parallèlement, d'où résultat « prévu ».

Rappelons que la maladie naturelle se trouve fréquemment suivie d'immunité, pour les mêmes motifs que la maladie expérimentale (et la vaccination). — Nous laisserons de côté l'immunité héréditaire, peu étudiée au point de vue phagocytose. — Un mot, seulement, de la *résistance aux protozoaires* ; les conditions respectives de la destruction extra- et intracellulaire y sont encore médiocrement précisées aujourd'hui. — Reste l'immunité contre les gros parasites. Chaque fois que l'on note une réaction leucocytaire (un enkystement, avant tout), il sied de considérer les anticorps comme jouant quelque rôle. Mais l'indifférence aux gros parasites doit tenir, principalement, à des questions d'alimentation non « adéquate » et de composés nocifs (lesquels ?), très efficaces contre le métazoaire en jeu (dans l'indifférence aux microbes, ces questions interviennent éventuellement aussi, d'après nous).

Nous avons l'air de parler ici de l'immunité comme d'un phénomène absolu ; tel n'est point le cas ordinaire. Le mécanisme de la *résistance incomplète* se confond alors avec celui de la guérison des espèces sensibles et la destruction intracellulaire des germes s'y rencontre couramment.

En terminant ce chapitre, il faut bien s'entendre sur les rapports de la phagocytose et de l'état réfractaire. L'immunité au regard des microbes est, avant tout, une affaire d'anticorps (comme on l'a vu) ; la phagocytose, également (comme on le verra) ; mais ces deux effets de la même cause conservent leur autonomie. Ainsi, bien que relativement peu importante, la destruction extracellulaire des germes demeure incontestable ; inversement, beaucoup d'organismes habitent régulièrement les phagocytes, ce qui ne les empêche pas d'amener la mort des sujets infectés.

Pour l'immunité antitoxique, elle n'offre aucune relation visible avec la phagocytose ; aussi, devons-nous la passer ici sous silence, malgré tout son intérêt.

MÉCANISME DE LA PHAGOCYTOSE

Quels sont le *mécanisme* et la *nature* de la phagocytose ? Afin de répondre à ces deux questions dans la mesure du possible, il convient de comparer le résultat des expériences *in vitro* et l'ensemble des faits que nous avons brièvement exposés. On sait de quel précieux secours sont les recherches *in vitro*, pour la genèse et le contrôle des découvertes, mais on n'ignore pas qu'elles doivent être interprétées prudemment. Il va sans dire que, plus leurs conditions et leurs conséquences se rapprochent de celles des recherches *in vivo*, plus leur valeur s'accroît.

Mouvements des phagocytes libres.

D'abord, qu'avons-nous appris sur les mouvements « spontanés » et « dirigés » des phagocytes libres, par l'examen hors de l'organisme ? Les observations directes des Auteurs ont fourni de nombreux documents, dont on trouvera le détail partout ; les études cinématographiques de Comandon sont encore supérieures comme intérêt, étant données l'élégance et la précision de la nouvelle méthode. En ce qui concerne les mouvements « spontanés », ils n'ont de volontaire que l'apparence ; ils représentent de simples réactions, envers des causes souvent visibles (contact de corps solides), présumables ailleurs avec vraisemblance (actions chimiques). La reptation caractéristique, qui les résume, reconnaît évidemment pour motif une différence de tension superficielle entre la partie étalée de la cellule et le reste.

De même pour la diapédèse, où l'on note la dissemblance typique d'aspect que montrent la portion intravasculaire, globuleuse, du leucocyte « engagé » et son segment externe, irrégulier. Nous savons que, dans l'inflammation, l'ectasie des capillaires traduit l'action directe, sur eux, des corps irritants et qu'elle entraîne le ralentissement du flux sanguin, suivi de l'accumulation des globules blancs contre l'endothélium des vaisseaux. Celui-ci se trouve modifié dans ses propriétés par la stase ; la traversée des globules représente la conséquence (encore mal expliquée) de l'altération endothéliale. Il nous semble vraiment impossible d'admettre une « attraction » des éléments mobiles au travers des capillaires ; mieux vaut avouer que le sujet reste obscur.

Les mouvements « spontanés » des leucocytes (entre lame et lamelle) s'effectuent sans ordre ; leur vitesse augmente, avec la température, jusqu'à une certaine limite, suivant la loi de van't Hoff-Arrhenius (Comandon). — Les mouvements « dirigés » sont ceux qui conduisent droit les phagocytes libres vers les particules qu'ils vont s'incorporer ou entourer. Voici, d'après Comandon, la façon dont se comportent les leucocytes d'animaux divers (entre lame et lamelle), quand on place de la poudre d'amidon dans la préparation qui les contient. Les globules se dirigent vers l'amidon (la vitesse continuant à n'être fonction que de la température) et finissent par l'atteindre. Ils s'étalent, ensuite, contre les grains et, si ces derniers offrent des fissures, les débitent en petits blocs qu'ils englobent. Lorsqu'il s'agit de particules volumineuses, les leucocytes s'accumulent autour d'elles, formant ainsi des sortes d'« abcès » *in vitro*. Au bout de quelques heures, les globules blancs, altérés, ne réagissent plus et les « abcès » se désagrègent. Cependant, même morts, les leucocytes adhèrent encore à l'amidon. Comment se représenter les mouvements « dirigés » ? On admet, habituellement, que les particules en jeu laissent diffuser des substances qui modifient la tension superficielle des phagocytes libres. — Ce sont toujours des changements de cette tension qui font sortir la cellule mobile de son état (sphérique) de repos, déterminant l'apparition de pseudopodes caractéristiques. Ces changements reconnaissent des raisons variées, surtout les contacts et les actions chimiques (mais pas toutes). Lorsqu'une cause (de nature et de direction constantes) domine nettement, c'est le mouvement rectiligne ; lorsqu'il s'agit de petites causes, sans cesse changeantes (dans leur nature et dans leur direction), c'est le mouvement « spontané », dont les zigzags défient nos descriptions : rappelons encore que la vitesse des deux mouvements se montre identique, pour des températures égales.

Le déplacement des leucocytes est, savons-nous, entravé par les anesthésiques, qui, concentrés, coagulent le protoplasma ; de même, quant à la phagocytose. Celle-ci se trouve cependant favorisée par de faibles quantités de poison, lesquelles, suivant Hamburger, diminuent la tension superficielle, en se dissolvant dans les lipoïdes externes de la cellule.

Abordons, maintenant, le problème de la phagocytose proprement dite. Elle comprend trois actes : le contact adhésif, l'englobement et la digestion.

Contact adhésif.

Le contact (accolement, attachement), transitoire et pour ce motif méconnu *in vivo*, peut être facilement mis en évidence *in vitro*, comme l'a établi, le premier, Sawtchenko, lorsque l'on retarde ou empêche l'englobement. Déterminons (ainsi qu'il le fait), chez deux cobayes, un exsudat leucocytaire, par injection intrapéritonéale de bouillon (additionné d'aleurone). Après dix-huit heures, introduisons, dans l'abdomen du *premier* animal, des hématies ovines « sensibilisées » (soumises à l'action d'un sérum « antimouton » de lapin, puis débarrassées de ce sérum et émulsionnées avec de l'eau physiologique); passé quelques minutes, l'exsudat, prélevé, montre de nombreux globules rouges au sein des phagocytes, très peu contre leur surface. Après le même temps, saignons complètement le *second* cobaye et refroidissons-le soixante minutes dans la neige. Puis, ouvrons le ventre, introduisons, comme précédemment, des hématies ovines « sensibilisées » et mélangeons-les intimement à l'exsudat; passé quelques minutes, le pourtour des leucocytes (mono- et polynucléaires), que le froid immobilise, est recouvert de globules rouges, dont le nombre s'accroît continuellement. Signalons d'autres résultats de Sawtchenko sur cet attachement, que Ledingham avait déjà noté. Le phénomène se produit avec les leucocytes lavés, mais il reste moins marqué et n'intéresse que les mononucléaires. On constate, sans peine, l'accolement, avec les leucocytes tués par la chaleur (50° — une heure), dont le protoplasma, rigide, ne saurait rien s'incorporer. Mêmes résultats généraux, quand on remplace les hématies par des vibrions (« sensibilisés »). Enfin, le complément jouerait un rôle essentiel (opinion habituellement contestée aujourd'hui). Suivant l'auteur, l'attachement, comme l'agglutination, reconnaît pour cause une attraction, qui nécessite la présence d'électrolytes. Cette attraction, capitale dans la phagocytose, intervient seule toutes les fois qu'il n'existe aucun mouvement « dirigé » des cellules mobiles : cas

des particules de charbon, entre autres — et toutes les fois qu'il s'agit de phagocytes fixes : cas des injections intravasculaires de poudres et de bactéries (soit avirulentes, soit virulentes mais « sensibilisées »), qu'engloberont les endothéliums hépatiques et spléniques. Un élève de Sawtchenko, Barikine, réalise l'accolement des hématies (mêlées au sérum spécifique chauffé — donc sans complément) sur les leucocytes adhérents à des plaques de verre, même après chauffage de ces éléments, rendus artificiellement fixes. Levaditi et Mutermilch décrivent l'attachement des trypanosomes (mêlés au sérum spécifique), que les globules blancs soient vivants ou non. Nous avons vu, précédemment, que ces globules morts ne se détachent pas des grains amylacés (Comandon). Que faut-il conclure de tout cela, pour le mécanisme de la phagocytose *in vivo*? Dans certains cas, les leucocytes vont vers les particules; ailleurs, ils ne les rencontrent que par hasard (chez les phagocytes fixes, la rencontre est naturellement toujours fortuite); l'effet constant et indispensable reste bien le contact adhésif, comparable à l'agglutination. Mais ce phénomène, trop éphémère, demeure généralement inaperçu; il faut opérer *in vitro*, dans des conditions spéciales, pour le déceler (on « allonge » alors le temps, ainsi que faisait Galilée avec le plan incliné); il serait indiqué, ici encore, d'employer la cinématographie comme moyen d'analyse.

Englobement.

Etudions le second acte de la phagocytose, l'incorporation. Selon Rhumbler, les amibes ingèrent la nourriture solide de deux manières différentes. Tantôt, on observe l'*englobement proprement dit*: autour de la particule, le protoplasma s'élève circulairement, la dépasse et l'aliment est ainsi emprisonné; tantôt, c'est la *pénétration simple*: la particule s'enfonce progressivement, la substance amibienne « cède » et l'aliment gagne l'intérieur de la cellule; dans les deux cas, la tension superficielle diminue au niveau du corps étranger, parce que la surface du protiste « mouille » celui-ci. Voici, maintenant, comment se comportent les phagocytes des métazoaires. Les uns sont dénués de mobilité (même partielle), ce qui ne les empêche pas de s'incorporer les poudres et bactéries, par le

second des mécanismes indiqués; tels, certains éléments libres et tous les éléments fixes. Les autres, leucocytes types, susceptibles de montrer l'englobement proprement dit, le réalisent ou non, suivant les circonstances. *In vivo*, on voit les hématies, les trypanosomes... captés d'après le schéma courant; pour les bactéries, la pénétration simple semble très fréquente, mais le sujet appelle de nouvelles recherches. *In vitro*, à la température du corps, les globules blancs s'étalement sur les grains d'amidon et de charbon, puis les enrobent (Comandon); ils s'incorporent également les hématies « sensibilisées », de la façon classique (pour les bactéries, on ne sait guère) — à température peu élevée, les hématies s'enfoncent simplement dans les phagocytes (à 37°, lors d'agitation continue, les bactéries se conduisent pareillement) — enfin, à température réellement basse (ou chez les leucocytes morts), le phénomène reste impossible. Il semble hors de doute que, pour un même objet, les deux modes d'incorporation dépendent essentiellement de la viscosité du protoplasma en jeu: lorsque celle-ci est faible, ce protoplasma s'élève facilement sur le corps étranger; lorsqu'elle s'accroît, il ne peut que se laisser pénétrer; quand elle dépasse une limite donnée, il devient infranchissable.

Nous croyons inutile de développer davantage l'histoire de l'englobement: rappelons seulement qu'il suppose des particules plus petites que les phagocytes; sinon, les éléments libres entourent l'objet introduit et l'on peut rencontrer alors tous les intermédiaires entre les cellules géantes par fusion, et le sac leucocytaire d'enkystement.

Digestion.

Reste la digestion (éventuelle) des objets enrobés. On la connaît depuis longtemps, chez les amibes, où ces corps se trouvent dissous au sein de vacuoles appelées, conséquemment, digestives. Chez les phagocytes des métazoaires, même phénomène.

On peut extraire, des globules blancs (normaux ou pathologiques), divers enzymes. Les plus intéressants, pour nous, sont ceux qui modifient les matières ternaires et, surtout, les pro-

téiques. Les « protéases » varient selon le type de leucocytes et l'espèce animale. Opie distingue un ferment agissant en milieu acide (fourni par les mononucléaires) et un ferment agissant en milieu alcalin (sécrété par les polynucléaires); Jochimann décrit une érepsine; tous les auteurs constatent le pouvoir dit antitryptique des sérums (pouvoir dont l'intensité diffère suivant les animaux et qui semble lié à la fraction-albumine de ces sérums, d'après Opie).

On attribue la fonte purulente des exsudats à l'autolyse des cellules blanches nécrosées, explication admissible (mais non unique), quand le microbe pyogène ne produit aucune diastase protéolytique. Il convient de noter que, dans l'histoire des plaies de guerre, le rôle des fermentes dont nous parlons et que libèrent, croit-on, les leucocytes morts, change de nature avec l'époque des accidents; d'abord, ce rôle apparaît favorable, puisqu'en dissolvant les tissus altérés les enzymes contribuent au « nettoyage » du foyer; plus tard, il devient nuisible, puisqu'en attaquant les bourgeons charnus ils retardent la réparation de la perte de substance (Policard).

La concordance entre les données chimiques (quelque peu superficielles) et l'examen histologique est, somme toute, satisfaisante. Ce dernier examen nous montre, on le sait, les cellules et microbes, englobés, se désintégrant progressivement, prenant des colorations anormales puis demeurant incolores, s'évanouissant enfin, sauf certains résidus caractéristiques (grains de pigment). Les cellules animales, les levures, les spores... sont surtout prises par les mononucléaires; les bactéries, surtout par les polynucléaires, dans les affections aiguës. Dans les affections chroniques, les mononucléaires, agents de réaction tardive, contiennent souvent seuls les parasites.

Notre travail, déjà cité, indique comment on doit concevoir la disparition des antigènes, *quels qu'ils soient*, supposés extra-cellulaires. Nous inspirant des recherches classiques et des nôtres, nous avons été amenés au schéma suivant : les antigènes et les anticorps se fixent les uns sur les autres; les compléments disséminent les micelles antigène-anticorps, ainsi formées, les séparant entre elles et les isolant du reste des cellules ou humeurs; après cette dislocation, les enzymes protéolytiques ambients accomplissent leur œuvre. La disparition des antigènes figurés, *au sein des cellules*, ne reconnaît certainement pas un mécanisme différent; ces antigènes, « chargés » d'anticorps puis de complément dans le plasma, sont enrobés

par les phagocytes, dont le pouvoir digestif l'emporte de beaucoup sur celui des humeurs. — Rappelons encore que l'englobement n'est point fatalement suivi de l'attaque des microbes incorporés. Loin de là; les germes se multiplient souvent aux dépens des phagocytes, les tuent et, alors, mènent la vie libre ou sont de nouveau enrobés. Après plusieurs englobements successifs, ils ont fréquemment « le dessous », lors d'infections aiguës; mais, lors de maladies chroniques, l'existence intracellulaire des parasites peut se continuer indéfiniment, affectant parfois les allures de la symbiose, ainsi que nous le disions précédemment.

NATURE DE LA PHAGOCYTOSE

Quelle est la *nature* de la phagocytose? Depuis que l'on sait que le phénomène du contact adhésif constitue ici le point essentiel, on la classe parmi les actes « associatifs », près de l'agglutination; elle représente, somme toute, une agglutination « hétérologue ». Or, l'agglutination « homologue » ou agglutination proprement dite comprend, entre autres modalités; les trois types suivants : réunion « spontanée » de cellules identiques; réunion, sous l'influence des sérum normal; réunion, sous l'influence des sérum « anti ». De même, on reconnaît (*in vitro*): la phagocytose spontanée, la phagocytose par les sérum normal, la phagocytose par les sérum spécifiques. Homologue ou hétérologue, l'agglutination devient fatale, quand les éléments, susceptibles de confluir, cessent, pour des raisons variées, de se trouver en équilibre avec le milieu ambiant.

La *phagocytose spontanée* apparaît, chez les amibes, lorsqu'elles prennent une nourriture solide. On la réalise, artificiellement, chez les leucocytes lavés, suspendus dans l'eau physiologique et auxquels on fait ingérer, *in vitro*, des particules diverses. Ce qui nous intéresse surtout, ce sont les expériences d'englobement des microbes, dont on doit les premières à Bordet. Malheureusement, elles n'ont pas fourni, jusqu'ici, de données bien précises. On se trouve, d'ailleurs, assez loin de l'*« in vivo »*.

Examinons l'autre cas extrême, la *phagocytose que provoquent les anticorps spécifiques*, phénomène découvert par Denys et Leclef (1895). Ces auteurs, étudiant, parallèlement, le sérum de lapins neufs et de lapins vaccinés contre le streptocoque, notèrent que le second n'était point plus bactéricide que le premier *in vitro*, mais qu'il y déterminait, seul, la phagocytose. Mennes fit les mêmes remarques, pour le sérum des sujets immunisés vis-à-vis du pneumocoque. Les recherches de Neufeld et Rimpau confirmèrent les deux ordres de travaux qui précédent. On se rappelle les études, si intéressantes, de Sawtchenko sur les hématies et les vibrions. Inutile de multiplier les citations; voici, brièvement, ce que l'on peut dire aujourd'hui. Etant donnés un germe et le sérum « anti » correspondant, les leucocytes des divers animaux s'équivalent pratiquement (on emploiera, toutefois, cela va de soi, les globules de la même espèce, pour chaque groupe d'expériences). Les anticorps agissent sur les parasites et non sur les cellules phagocytaires, ainsi qu'il est très facile de le démontrer directement. Les leucocytes des sujets immunisés contre le microbe étudié ne se révèlent pas plus actifs que ceux des individus neufs, la soi-disant accoutumance de ces éléments, pendant la vaccination, constitue une hypothèse sans fondement. Donc, l'étude *in vitro* explique très convenablement les observations *in vivo*. Notons, cependant, que le complément, qui intervient automatiquement dans l'économie, ne constitue pas un facteur indispensable à l'englobement hors de l'organisme, selon la majorité des auteurs.

Une question se présente ici, tout naturellement. Quand on immunise (et surtout hyperimmunise), les animaux contre les microbes, on suit, par l'examen de leur sérum, le développement de la résistance (active) de ces animaux et de la résistance (passive) que ce sérum peut conférer aux individus de même espèce ou d'espèce différente. Pour cela, tantôt on recherche l'effet *in vivo* et l'on conclut, de l'action préventive dans l'infection expérimentale, à l'action curative dans la maladie naturelle (le plus souvent d'une autre espèce); les avantages et les défauts du procédé sont évidents — tantôt, on s'efforce de titrer les anticorps *in vitro*; nous avons démontré, ailleurs, que l'évaluation du pouvoir agglutinant et précipitant du sérum ne

comportait aucune signification précise; il faut donc étudier soit la faculté bactéricide, ressource limitée en ses applications et délicate d'emploi, soit la propriété de fixer le complément (technique Bordet-Gengou), moyen excellent et plus général. Il est évident que, si l'on interroge la phagocytose provoquée (*in vitro*), on se tiendra assez exactement entre les deux manières de faire. Plusieurs auteurs ont tenté de répondre à ce desideratum, mais il faut avouer que les méthodes préconisées demeurent encore trop compliquées pour la pratique.

Reste à envisager la *phagocytose, sous l'influence des sérum normaux*. Wright et Douglas ont constaté que les globules blancs humains, en présence de sérum humain, captent divers microbes. On a ensuite étendu cette observation aux sérum et leucocytes d'espèces très variées. Les substances actives des humeurs normales se fixent sur les bactéries, comme les anticorps spécifiques (Bulloch et Atkin) et les germes, ainsi « sensibilisés », se trouvent alors englobés. Ces substances actives, étant souvent médiocrement résistantes au regard de la température, certains auteurs concluent qu'elles représentent de simples compléments. Rien de plus facile que de réfuter une pareille conception. Les anticorps naturels se montrent fragiles, parce que leur concentration est faible; les anticorps artificiels flétrissent pareillement, si on les dilue (Wright). D'ailleurs, la « thermolabilité » des anticorps normaux a été certainement exagérée; elle fait même, éventuellement, défaut. N'oublions pas, enfin, que les compléments ne se fixent, sur les antigènes, que par l'intermédiaire des anticorps et *jamais directement*. Il suffit, du reste, d'une trace de ces derniers; ainsi, nous avons noté, jadis, que $0,5 \cdot 10^{-18}$ cent. cube d'un sérum antivibrionien (de cheval) permettait, sans difficulté, l'action bactéricide (partant, la fixation) de $2 \cdot 10^{-2}$ cent. cube d'un sérum normal frais (de cobaye). — L'influence de la virulence, sur l'englobement *in vitro* des divers germes, en présence des sérum normaux (et « anti »), n'est pas encore connue avec netteté.

Il faut donc imaginer, dans la phagocytose, certains rapports (lesquels?) entre l'élément englobant et la particule englobée, d'où résulte la rupture d'équilibre indiquée précédemment. *In*

vivo, ce sont évidemment les anticorps qui « déclenchent » tout. Lorsque leur concentration est notable et qu'il s'agit d'antigènes « très solubles », la destruction hors des cellules s'ajoute à la phagocytose et peut même la remplacer plus ou moins complètement ; si cette destruction prend une importance suffisante, on voit apparaître les signes connus d'hypersensibilité, lesquels revêtent volontiers, cliniquement, l'allure de la crise des Anciens. Mais, d'habitude, avons nous-dit, la résistance (cas des microbes) se traduit par l'englobement des parasites, dont une quantité, variable, sont captés vivants (bien que « sensibilisés »). Dans l'immunité (et surtout l'hyperimmunité) acquise, l'intensité de la phagocytose marche de pair avec l'abondance des anticorps, fréquemment décelables. Pour l'immunité naturelle, voici ce que l'on peut dire. Il existe des anticorps normaux, capables de produire l'englobement des germes ; rien de plus sûr, mais les relations entre leur qualité et leur quantité d'une part, la nature et l'intensité de l'état réfractaire d'autre part, n'apparaissent point encore avec exactitude. Le raccord des expériences *in vitro* et des observations *in vivo* nécessitera l'élaboration de nouvelles techniques. Celles-ci devront être simples, rapides et bien comparables, afin de permettre des recherches très nombreuses et suffisamment précises. On saura, alors, jusqu'à quel point la phagocytose, hors de l'organisme, renseigne sur la résistance des animaux et, du même coup, sur la virulence des germes. Nous nous efforçons, actuellement, de trouver de telles méthodes, convaincus de l'importance des résultats qu'elles fourniront dans la solution des deux problèmes précédents et, aussi, dans le titrage des sérum antimicrobiens.

LA RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT DANS LE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

par L. PANISSET, professeur
et JEAN VERGE, chef de travaux à l'École d'Alfort.

La réaction de fixation (réaction de déviation du complément ou méthode de Bordet-Gengou) a été relativement peu utilisée dans le diagnostic de la tuberculose chez nos diverses espèces domestiques.

Nous l'avons expérimentée dans la recherche de la tuberculose, bovine ou canine, et de l'entérite chronique hypertrophante des bovidés. C'est le résultat de ces essais que nous relatons ici.

Nous dirons d'abord la technique que nous avons suivie, les résultats obtenus en matière de tuberculose et de diarrhée chronique; l'influence qu'exercent les injections de tuberculine sur la production des anticorps spécifiques. Nous terminerons par quelques considérations sur la nature de la réaction à la tuberculine et le mécanisme de la méthode de Bordet-Gengou.

I. — Technique.

Nous avons adopté uniformément la technique de Calmette et Massol : doses croissantes d'alexine (sérum de cobaye) diluée au quinzième, en présence de quantités fixes d'antigène et du sérum à étudier suivant le schéma suivant.

Les divers éléments de la réaction étaient toujours ajoutés selon l'ordre exposé dans ce tableau. Le sérum hémolytique consistait en sérum de cheval antimouton.

Nous avons le plus fréquemment opéré avec l'antigène tuberculeux de Boquet et Nègre (extrait à l'alcool méthylique de bacilles de Koch après traitement acétonique). Mais de

nombreuses réactions furent exécutées parallèlement au moyen de l'antigène à l'œuf de Besredka, suivant un thème analogue au tableau précédent. En ce cas, seules différaient : la dose d'antigène à mettre en présence du sérum à étudier (0 c. c. 3 d'antigène de Besredka); la quantité d'eau physiologique

ALEXINE diluée à 1/15 Dose minima- tive : 0 c. c. 1	SÉRUM suspect chauffé	ANTIGÈNE Boquet et Nègre dilué à 1/20	EAU physiologi- que	I 1 HEURE A L'ÉTUVE A 37°		II 1/2 H. A L'ÉTUVE A 37°	
				GLOBULES de mouton (en gouttes)	SÉRUM hémolyti- que chauffé (en gouttes)		
c. c.	c. c.	c. c.	c. c.				
1	0,1	0,3	1	1,1	I	I	
2	0,2	0,3	1	1	I	I	
3	0,3	0,3	1	0,9	I	I	
4	0,4	0,3	1	0,8	I	I	
5	0,5	0,3	1	0,7	I	I	
6	0,6	0,3	1	0,6	I	I	
7 } Tuves 8 } témoins 9 } du serum	0,1	0,3	—	2,1	I	I	
10 } Tuves 11 } témoins 12 } de 13 } l'antigène	0,2	0,3	—	2	I	I	
	0,3	0,3	—	1,9	I	I	
	0,4	—	1	1,4	I	I	
	0,2	—	1	1,3	I	I	
	0,3	—	1	1,2	I	I	
	0,4	—	1	1,1	I	I	

nécessaire pour compléter chaque tube à un volume uniforme de 2 c. c. 5.

L'alexine était toujours titrée au préalable : la dose minima active fut, le plus souvent, de 0 c. c. 1.

Le titrage des sensibilisatrices des sérum de bovidés tuberculeux fut effectué selon la technique de Calmette et Massol (1). Si un volume V du sérum étudié dévie N doses minima d'alexine, le rapport $\frac{N}{V}$ représente le nombre de doses minima

(1) On trouvera ces techniques exposées de façon très claire dans le livre d'Armand-Delille et Nègre : *Technique de la réaction de déviation du complément*.

d'alexine que dévie 1 cent. cube de sérum. Ce moyen permet la comparaison des divers sérums entre eux et l'évaluation de leur richesse en anticorps spécifiques. Nous reviendrons plus loin sur ce point.

L'emploi simultané de l'antigène de Boquet et Nègre et de l'antigène de Besredka nous a permis de comparer leur valeur respective en présence d'un même sérum bovin, tuberculeux ou non. Nos essais, poursuivis comme l'indique le tableau ci-dessous sur 10 sérums de bovidés infectés et sur 10 sérums de bovidés sains, sur 1 sérum de chien bacillisé et sur 3 sérums de chiens normaux, corroborent les données antérieures de Moser en la matière. Il y a concordance presque absolue entre les résultats fournis par les deux antigènes; peut-être la balance pencherait-elle légèrement en faveur de l'antigène méthylique qui s'est montré un peu plus sensible?

SÉRUMS TUBERCULEUX	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	CHIENS tubercu- leux
Réaction de fixation avec l'antigène Boquet et Nègre	++	++	+++	-	+	++	+	++	+	++	+++++
Réaction de fixation avec l'antigène de Besredka	+++	++	++	-	+++	++	-	+++	+	+++	++++
SÉRUMS SAINS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	CHIENS SAINS
Réaction de fixation avec l'antigène Boquet et Nègre	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Réaction de fixation avec l'antigène de Besredka	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Cependant, chez une vache non réagissante à la tuberculine et cliniquement indemne, la réaction de fixation — positive avec l'antigène de Boquet et Nègre — resta négative avec celui de Besredka.

Par contre, sur un jeune bœuf qui avait donné une intradermo-réaction typique, la déviation du complément fut positive avec l'antigène Boquet et Nègre et négative avec l'antigène de Besredka.

En résumé, nous concluons à une sensibilité apparemment égale des deux préparations, un peu plus marquée peut-être en ce qui concerne l'extrait alcoolo-acétonique.

La plupart des sérum bovins que nous avons examinés provenaient de sanguins récoltés aussitôt après l'abatage, après constatation de lésions de tuberculose sur les différents organes. Le sérum, décanté aseptiquement, était utilisé dans les quarante-huit heures qui suivaient le prélèvement.

Avant de pratiquer la réaction de fixation, nos sérum furent toujours inactivés par chauffage d'une demi-heure à 60°. Non seulement l'alexine est, par ce moyen, totalement détruite, mais encore le pouvoir anticomplémentaire spontané de certains sérum de bovidés disparaît ainsi presque entièrement. Or ce pouvoir anticomplémentaire — parfois très marqué et que l'on rencontre aussi bien chez des sujets sains qu'en des organismes infectés — constitue une source importante d'erreurs ou, du moins, de difficultés dans l'interprétation des résultats de la réaction de fixation.

D'où vient, en effet, que certains sérum, sans que l'on sache pourquoi, fixent l'alexine en dehors de tout antigène tuberculeux? La réaction apparaît alors positive dans les tubes témoins : absence complète d'hémolyse après addition des hématies sensibilisées. Il est nécessaire de modifier légèrement les dispositions générales de la méthode pour les sérum fortement anticomplémentaires, surtout quand l'alexine est peu active.

Different moyens peuvent être utilisés pour éviter les erreurs d'interprétation et les conclusions erronées :

1^o Ou bien on laissera les tubes, à leur sortie de l'étuve, une heure à la température du laboratoire et on lira les résultats après ce délai seulement;

2^e Ou bien on portera, pour chaque réaction, le nombre de tubes témoins sérum à 6;

3^e Ou bien on ajoutera un excès de sérum hémolytique. Dans quelques cas, nous avons employé 11 gouttes du sérum hémolytique de cheval antimouton, au lieu d'une seule goutte. Mais la réaction perd ainsi en sensibilité ce qu'elle gagne en netteté;

4^e On chauffera les sérums à étudier, non plus à 56° ou à 58°, mais à 60° pendant trente minutes. Cela constitue le meilleur procédé de destruction du pouvoir anticomplémentaire spontané.

Depuis que nous avons adopté cette dernière solution, nos réactions ont toujours été facilement appréciables. Cependant, en quelques cas très rares, nous avons vu la qualité fixatrice spontanée de certains sérums résister au chauffage à 60°; alors — comme l'indique Rubinstein — on pourra toujours interpréter les résultats de la réaction de fixation à partir de la dose d'alexine supérieure à celle qui a été déviée par le sérum seul.

Le chauffage des sérums présente toutefois un inconvénient : les sérums peuvent coaguler et leur obtention est ainsi rendue impossible. Mais cet ennui demeure léger au regard des multiples avantages que vaut leur inactivation à une température relativement élevée.

D'où proviennent les facteurs capables d'empêcher l'hémolyse des globules sensibilisés ? Pourquoi certains sérums fixent-ils l'alexine en l'absence de tout antigène ? On ne saurait dire, avec quelques auteurs allemands (Wassermann, Citron, etc.), que c'est à la présence simultanée d'antigène et d'anticorps dans les sérums que ceux-ci doivent leur pouvoir anticomplémentaire spontané — puisque ce pouvoir se manifeste également chez des sérum de bovidés non infectés.

Il est probable que, sous diverses influences non élucidées, quelques sérums acquièrent la particularité très spéciale de fixer le complément en présence d'un antigène tuberculeux. Les substances protéiques de ces sérums doivent se comporter comme le complexe antigène-anticorps : il suffit peut-être, pour réaliser cette analogie, d'un équilibre colloïdal spécial, que nous ne savons encore déterminer ?

Une autre cause d'erreur, dans la réaction de fixation, naît du fait que quelques sérums de bovidés sains donnent des résultats positifs avec l'antigène tuberculeux. En d'autres termes, un sérum normal se comporterait comme s'il renfermait des anticorps spécifiques.

L'exemple suivant est particulièrement typique à cet égard : une vache, en parfaite santé, mais atteinte de verrues, n'ayant jamais réagi à la tuberculine, nous a donné à quatre reprises différentes des réactions positives fort nettes par la méthode de Bordet-Gengou.

A l'autopsie, aucune lésion ganglionnaire (apparente ou occulte), aucune lésion viscérale ne put être décelée. Un cobaye, inoculé avec le produit de broyage des ganglions trachéo-bronchiques, n'a jamais rien présenté d'anormal.

Comment interpréter pareil phénomène ? Nous pensons qu'il peut s'expliquer par la présence, dans le sérum de ce sujet, d'*anticorps normaux*, capables de se fixer sur l'antigène et d'adsorber ainsi tout ou partie de l'alexine, à la faveur de la constitution du complexe antigène-anticorps. Peut-être s'agit-il seulement de bacillisations sommeillantes ou de lésions telles que, seule, une autopsie d'une minutie sévère serait capable de mettre en évidence ?

Nous ne dirons rien des substances inhibitrices contenues en quelques sérums. Si des bovidés notoirement tuberculeux (contrôle nécropsique) donnent parfois des réactions de fixation négatives, est-ce à dire que leurs sérums renferment l'inhibitrice, si parfaitement étudiée par le professeur Calmette ? Nous n'osons formuler d'opinion à cet égard.

En résumé, dans l'étude des réactions de fixation, on ne confondra pas :

1^o Le pouvoir anticomplémentaire spontané, lequel — antagoniste de l'hémolyse — masque celle-ci dans les tubes témoins du sérum ;

2^o Le pouvoir de fixer le complément, apanage de certains sérums normaux, qui se comportent alors comme des sérums tuberculeux ;

3^o Le pouvoir inhibiteur (très rare lorsqu'il ne s'agit pas de sujets hypervaccinés), grâce auquel des sérums tuberculeux se

révèlent comme des sérums normaux, ne renfermant pas d'anticorps spécifiques.

Les sérums à étudier ne furent pas toujours examinés dans les quarante-huit heures de leur récolte. Aussi avons-nous voulu, pour éliminer toutes causes d'erreur, nous assurer de l'influence qu'exerçait, sur la réaction de fixation, le vieillissement des divers sérums, tuberculeux ou non, à la glacière.

Nous n'avons pas observé — comme on s'en rendra compte par le tableau ci-dessous — que l'intensité de la déviation du complément soit changée dans un sens quelconque (augmentée ou diminuée), du fait du séjour de nos 46 sérums bovins (9 sains, 7 tuberculeux) à la glacière.

En particulier 2 sérums qui renfermaient, l'un 7 unités d'anticorps, l'autre 10 unités, ont conservé le même titre après un séjour respectif de vingt et un et quinze jours au frigorifique.

ANIMAL	PREMIÈRE RÉACTION DE FIXATION	DEUXIÈME RÉACTION DE FIXATION avec même sérum que la première, mais conservé en glacière	TEMPS ÉCOULÉ entre les deux réactions de fixation
Sain	—	—	7 jours.
—	—	—	7 —
—	—	—	2 —
—	—	—	2 —
—	—	—	2 —
—	—	—	7 —
—	—	—	2 —
—	—	—	9 —
—	—	—	15 —
Tuberculeux . .	+ +	+ +	7 —
— . .	+ +	+ +	2 —
— . .	+ + +	+ + +	9 —
— . .	+ + + + +	+ + + + +	8 —
— . .	+ +	+ +	8 —
— . .	7 unités d'anticorps.	7 unités d'anticorps.	21 —
— . .	10 — —	10 — —	15 —

Donc la conservation des sérums à la glacière, dans un délai qui peut aller de deux à vingt et un jours, n'altère pas leur

richesse en anticorps spécifiques. De plus, leur pouvoir anticomplémentaire ne semble subir aucun changement de ce fait.

II. — Réaction de fixation et Tuberculose bovine

La méthode de Bordet-Gengou a été appliquée au diagnostic de la tuberculose des bovidés depuis une quinzaine d'années. C'est seulement à partir du jour où Calmette et Masson, Besredka, Bouquet et Negre nous ont dotés d'anticorps sensibles que les indications de la technique se sont précisées et que la méthode a acquis une incontestable valeur.

En 1909, Hennepe et Jousset — cités par Hruska et Pfenniger — examinant les sérum de veaux vaccinés avec du tétanomorph, du bovostaphin et des bactéries humaines, constatèrent la présence d'anticorps fixant le complément en présence des antigènes correspondants.

En 1910, Ruppel et Rieckmann d'une part, Weber et Dietz d'en d'autre part, apportent leur contribution — aux conclusions un peu divergentes — à l'étude de la valeur et de la spécificité de la déviation du complément.

Bach ne se révèle pas partisan du procédé, qu'il déclare impropre au diagnostic. Hammer obtient de meilleurs résultats au cours de ses recherches.

En 1920, Borrel et Boëz (1) montrent que 20 sérum de bovidés tuberculeux donnent 18 réactions positives et 4 négatives, alors que, sur 50 sérum de bovidés sains, 47 ne fixent pas le complément en présence de l'antigène spécifique.

Enfin, tout récemment (1921), Hruska et Pfenniger (2), étudiant, au moyen de l'antigène à l'out de Besredka, 90 sérum d'animaux sains et 304 sérum de sujets tuberculeux à tous les degrés de la maladie, concluent ainsi : chez les bovidés infectés, la méthode donne 84,3 p. 100 de résultats positifs alors que le pourcentage de réactions positives est seulement de 2,2 chez les bovidés macroscopiquement sains.

De plus, selon ces auteurs, les résultats fournis par la réac-

(1) BORREL ET BOËZ. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1920, p. 4430.

(2) HRUSKA ET PEFFINGER. Le diagnostic de la tuberculose chez les bovidés au moyen de l'antigène de Besredka. Ces *Annales*, 1921, p. 96.

tion de fixation sont intimement liés à l'étendue des lésions constatées à l'autopsie :

Les bovidés atteints d'une tuberculose très peu avancée (tuberculose ganglionnaire) donnent une réaction positive dans 30 p. 100 des cas ;

Ceux qui présentent des lésions plus étendues (tuberculose pulmonaire, pleurale, péritonéale, viscérale) réagissent positivement dans 84,95 p. 100 des cas ;

Enfin les animaux atteints de tuberculose généralisée, mais jouissant d'un bon état général, donnent une réaction positive dans 100 p. 100 des cas.

Nos essais, moins étendus que les précédents, ont porté sur 148 sérum de bovidés tuberculeux ; 1 sérum de chien atteint d'ostéo-arthropathie hypertrophiante ; 63 sérum de bovidés sains ; 3 sérum de chiens normaux.

Parmi les 148 bovidés tuberculeux, 126 furent autopsiés et la tuberculose reconnue ainsi à l'examen anatomo-pathologique du cadavre ; les 22 autres sujets réagissaient à la tuberculine, injectée soit par voie sous-cutanée, soit dans le derme d'un pli sous-caudal.

Tous les bovidés sains furent systématiquement soumis à l'inoculation diagnostique de tuberculine. Un examen clinique complétait, chez les non-réagissants, les indications fournies par la tuberculination.

Le tableau représenté ci-dessous établit, de manière schématique, les résultats que nous avons obtenus :

	TOTAL	RÉACTIONS DE FIXATION		POURCENTAGE des réactions de fixation	
		positives	négatives	positives	négatives
Bovidés tuberculeux	148	134	14	90,5	9,4
Bovidés sains.	63	56	7	88,1	11,8
Chien tuberculeux	1	1	»	»	»
Chiens sains	3	»	3	»	»
Bovidés { autopsiés . . .	126	114	12	90,4	9,5
réagissant à la tubercu- line	22	20	2	90,9	9

Constatons simplement que le taux des bovidés tuberculeux qui — sans distinction de catégories, ni d'intensité de lésions — donnent une réaction de fixation positive est sensiblement plus élevé dans nos essais que le pourcentage indiqué par Borrel et Boëz (80 p. 100) ou par Hruska et Pfenninger (84,5 p. 100). Ces résultats tiennent-ils à une sensibilité plus exquise de l'antigène employé? Nous ne saurions l'affirmer, en l'absence d'autres éléments pour asseoir notre conviction.

Nous avons recherché l'origine des 14 animaux tuberculeux chez lesquels la déviation du complément se révéla négative. 12 ont présenté, à l'autopsie, des lésions certainement dues au bacille de Koch. Les 2 autres, maigres, en mauvais état, ont donné à la tuberculination sous-cutanée des réactions typiques; dans un cas, l'hyperthermie fut de 1°5; dans l'autre, de 1°9, avec chaque fois courbes en plateau; température du lendemain de l'injection dépassant 40°; tous signes qui font interpréter dans le sens positif une réaction tuberculinaire.

A quoi tient ce phénomène, encore inexpliqué à l'heure actuelle. Nous nous rallions volontiers à l'opinion du professeur Calmette : « Un assez grand nombre de malades qui réagissent à l'injection de tuberculine par voie sous-cutanée n'ont pas d'anticorps dans leur sérum ». Un jour peut-être, un antigène encore plus sensible que ceux utilisés à l'heure actuelle parviendra-t-il à les déceler?

Quant aux 7 animaux sains (non réagissants à la tuberculine et indemnes de signes cliniques) qui ont donné une réaction de Bordet-Gengou positive, nous ne savons que penser à leur égard. Notons qu'ici encore nous sommes en désaccord avec les statistiques d'Hruska et Pfenninger (chez ces auteurs, 2,2 p. 100 de réactions positives sur des animaux sains macroscopiquement; dans nos recherches, 11,1 p. 100 de réactions positives sur des sujets n'ayant pas réagi à la tuberculine).

*
* *

Nous allons examiner maintenant : la valeur qu'il faut accorder à la méthode de déviation du complément tant au point de vue du diagnostic que du pronostic de la tuberculose

des bovidés; les indications qui en découlent, quant à l'emploi du procédé.

Si l'on veut bien se reporter aux recherches de Borrel et Boëz, de Hruska et Pfenninger et aux nôtres, on constate que la réaction de fixation est positive dans 80 p. 100 (Borrel et Boëz), 85 p. 100 (Hruska et Pfenninger) et 90 p. 100 (Panisset, Verge et Grasset) des sérums de bovidés tuberculeux, tandis qu'elle est négative dans 94 p. 100 (Borrel et Boëz), 97 p. 100 (Hruska et Pfenninger), 89 p. 100 seulement (nos recherches) des sérums de bovidés sains.

Il semble donc qu'on puisse logiquement conclure, en présence de ces résultats concordants, à la spécificité étroite de la déviation du complément — avec quelques erreurs, inexplicables encore actuellement, mais probablement inhérentes à la perfection toute relative de nos moyens.

On ne peut, selon nous, être autorisé à conclure à la spécificité de la réaction de fixation dans la tuberculose des bovidés, uniquement parce que le taux des réactions positives, entre l'antigène tuberculeux d'une part et des anticorps des sérums à étudier d'autre part, est très élevé. Il faut autre chose : en particulier prouver que, dans les diverses affections qui peuvent se rapprocher cliniquement de la tuberculose, la méthode reste négative lorsqu'elle est pratiquée par les antigènes tuberculeux habituels.

Or, tout au moins en ce qui concerne les bovidés, il n'en est rien, comme nous le verrons plus loin à propos de nos recherches sur les sérums des bovidés atteints d'entérite chronique hypertrophiante. Chez l'homme, en matière de tuberculose, il en est de même. Rieux et M^{me} Bass (1) montrent que quelques sérums syphilitiques (fournissant un Wasserman positif) et certains sérums de paludéens en activité donnent une déviation positive avec l'antigène de Besredka. Pour ces auteurs la réaction de fixation, tout en étant spécifique, est limitée.

Pour nous, elle est d'une spécificité relative dans la tuberculose des bovidés. Ce fait domine les indications de la méthode et permet d'en préciser l'emploi, tant au point de vue

(1) RIEUX et M^{me} BASS, Réaction de fixation (antigène de Besredka) et tuberculose. *Ces Annales*, 1921, p. 378.

du diagnostic que de la prophylaxie sanitaire, ainsi que nous le verrons plus loin.

Il est possible de préciser, par le titrage, la richesse des sérum de bovidés tuberculeux en anticorps spécifiques. Ces sérum ne sont jamais très riches en sensibilisatrice, ainsi que Calmette l'a indiqué.

Sur 36 sérum étudiés, nous observons que le nombre d'unités d'anticorps — mesurés selon la méthode décrite plus haut — varie de 4 à 30, comme le montre le tableau ci-dessous :

UNITÉS D'ANTICORPS	NOMBRE DE FOIS RENCONTRÉS
4	2 fois
5	3 —
7	6 —
8	1 —
10	14 —
14	1 —
15	4 —
16	1 —
20	6 —
30	1 —

Il est certain que ces chiffres peuvent et doivent être largement dépassés en certains cas : lorsque le sujet est à une phase avancée de l'infection; lorsque la tuberculose est généralisée; lorsque les animaux ont été récemment tuberculinés, surtout par voie sous-cutanée.

Dans la règle, la richesse en anticorps du serum des bovidés infectés est faible : elle oscille entre 10 et 20 unités.

Y a-t-il une relation entre la richesse de ces sérum en anticorps spécifiques et l'intensité de la réaction tuberculinique ? Nous ne pensons pas, comme en fait foi le tableau suivant, qui vient corroborer les constatations de nombreux auteurs :

On peut se demander aussi s'il existe un rapport entre l'intensité de la réaction de fixation et l'étendue des lésions bacillaires des bovidés. Cela n'est pas douteux, d'après Hruska et Pfenninger et d'après nos propres constatations. Il y a un

RÉACTION DE FIXATION (1)	TUBERCULINATION	
	intradermo-réaction sous-caudale (1)	méthode sous-cutanée
++	++	"
+	+++	"
++	"	Réaction thermique : 1 ^o S
4 unités d'anticorps.	+++++	"
+ -		
+++++	++++	"
+++++	+ :- +	"
++++	++	"
10 unités d'anticorps.	"	Réaction thermique : 1 ^o G
++		

1) Le nombre de + est proportionnel à l'intensité de la réaction.

parallélisme indéniable entre la fréquence des résultats positifs et l'étendue du processus tuberculeux — que le tableau qui suit met en lumière :

ANIMAUX	NATURE DES LÉSIONS	INTENSITÉ DE LA RÉACTION DE FIXATION	
		Antigène Boquet et Nègre	Antigène Besredka
Vache	Tuberculose généralisée.	++++	+++
—	Tuberculose des poumons, des séreuses pleurale et périto-néale, du poumon et du foie.	++++	"
Veau	Tuberculose généralisée (réali-sée expérimentalement).	+++++	+++++
—	Id.	+++++	+++++
Vache	Tuberculose des ganglions du poumon.	++	++
—	Id.	++	"
—	Réaction sous-caudale, pas de signes cliniques. Encore vi-vante.	+	++
—	Réaction à la tuberculisation sous-cutanée. Maigreux, mau-vais état général. Encore vi-vante.	++	++

Godlewski (1) aboutit à ces conclusions : que la proportion des anticorps est en rapport avec l'intensité de l'imprégnation tuberculeuse; qu'il est rare de constater une teneur assez élevée en anticorps chez des sujets cliniquement sains. Il semble en être de même chez les bovidés : les sujets, sans tuberculose « dûment constatée » qui réagissent seulement à la tuberculine, donnent des réactions décelant une faible teneur de leurs sérum en anticorps spécifiques. Et nous pouvons conclure avec Armand-Delille (2) : réaction de fixation et réaction tuberculinique n'ont pas la même signification chez les bovidés tuberculeux.

* * *

Quelle valeur faut-il accorder à la méthode de Bordet-Gengou du point de vue du pronostic de la tuberculose des bovidés ?

Les observations faites tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire laissent à penser que la réaction de fixation est d'autant plus nette qu'il s'agit d'un processus tuberculeux en activité ou de lésions en voie d'évolution.

Lorsqu'il s'agit de tuberculose localisée, la déviation du complément est moins facilement interprétable, moins étendue, moins manifeste que dans le cas de tuberculose généralisée.

Chez l'homme, de nombreux travaux (Besredka et Netter, Ichok, etc.) ont montré que la réaction de fixation est parfois en rapport avec la résistance de l'organisme. Lorsque l'affection est grave et tend vers une issue fatale, lorsque l'économie infectée ne réagit plus ou réagit mal contre le processus morbide, la séro-réaction devient souvent négative.

Dans les diverses espèces animales, des constatations identiques ont été faites. De même que, chez l'homme, la déviation du complément est négative lors de l'évolution rapide et cachectisante de la bacilleuse ou dans le cas d'un processus déjà fort avancé (Debains et Jupille), de même chez le cobaye tuberculeux la réaction de fixation, de positive, devient

(1) GODELEWSKI. *Revue de Médecine*, 1922, no 3.

(2) ARMAND-DELILLE. *Bulletin médical*, 1921, no 44.

nulle dans les jours qui précèdent la mort (Fried et Moser).

Une vache, cliniquement tuberculeuse (maigreur et toux), ayant réagi nettement à l'intradermo-tuberculination, donna une réaction négative avec son sérum prélevé quelques jours avant la mort. Trois semaines auparavant, la réaction avait été, au contraire, nettement positive. Ces faits appellent, du reste, de plus amples vérifications.

III. — Réaction de fixation et tuberculose canine.

Nos essais, en matière de tuberculose des carnivores domestiques, sont trop peu avancés encore pour permettre des conclusions fermes; du moins méritent-ils qu'on s'y arrête, devant les défaillances nombreuses des méthodes du diagnostic clinique et expérimental chez le chien.

Il y aurait lieu, en particulier, de pratiquer la réaction de fixation — non seulement avec des sérum tuberculeux — mais encore avec des sérum de chiens atteints de localisations diverses de la maladie du jeune âge. Le fait que le sérum des carnivores hémolyse très rapidement les hématies ne constitue pas un empêchement à la pratique de la méthode de Bordet-Gengou.

Il suffira, pour éviter cette hémolyse, de recueillir le sérum soit par centrifugation, soit dans les toutes premières heures de l'exsudation.

Un chien, atteint d'ostéo-arthropathie hypertrophiante des jarrets, nous donna une réaction de déviation nettement positive avec les deux antigènes tuberculeux. Son sérum titrait 20 unités d'anticorps.

L'autopsie confirma le diagnostic clinique et la séro-réaction : tuberculose du poumon et de la plèvre, du péricarde et du myocarde, des ganglions de la cavité thoracique. 2 cobayes, inoculés sous la peau avec le produit de broyage des ganglions trachéo-bronchiques, se tuberculisèrent selon les données classiques.

Trois sérum normaux, provenant de chiens en excellent état de santé, donnèrent une réaction de fixation négative.

Il serait imprudent de dire, dès maintenant, que la tuberculose des carnivores domestiques peut être décelée par la

déviation du complément. Des expériences en cours précisent les indications du procédé et les résultats qu'en peut tirer le laboratoire.

IV. — Réaction de fixation et entérite chronique hypertrophiante des bovidés.

Depuis plusieurs années, la réaction de fixation est appliquée au diagnostic de la maladie de Johne. Twort, le premier, signale les résultats qu'il obtient. Ses recherches sont reprises par de nombreux auteurs, parmi lesquels il convient de citer O. Bang, Andersen, Sheather, etc.

Bang et Andersen (1) utilisent comme antigène une émulsion de cultures de l'agent de la maladie. Indépendamment de ce procédé, exécuté selon les règles classiques de la réaction de Wassermann, Bang et Andersen substituaient, à l'antigène paratuberculeux, un antigène tuberculeux, provenant d'une souche de bacilles de Koch authentiques, isolés sur un perroquet et de type vraisemblablement humain.

Ces deux auteurs montrent alors que le sérum de vaches à entérite chronique hypertrophiante fixe le complément en présence de bacilles tuberculeux aussi bien, sinon mieux, qu'en présence des bacilles paratuberculeux spécifiques :

Sur 25 sérums de vaches atteintes de diarrhée chronique :

- 52 p. 100 donnent une réaction positive en présence d'antigène tuberculeux (bacilles du type humain);
- 28 p. 100 donnent une réaction positive en présence d'antigène paratuberculeux;
- 24 p. 100 donnent une réaction positive en présence d'antigène tuberculeux (bacilles du type aviaire).

Sans connaître ce travail des savants danois, les essais que nous avons poursuivis concernent les sérums de 4 vaches atteintes d'entérite chronique hypertrophiante et de 2 jeunes bovidés infectés expérimentalement avec *Bacterium Phlei* (2).

(1) BANG et ANDERSEN. *Centralblatt für Bakteriologie*, t. 69, 1913.

(2) Ces deux sujets ont été mis à notre disposition par MM. Vallée et Ringuard à qui nous exprimons toute notre reconnaissance et qui, grâce à l'emploi d'excipients irrésorbables, ont réussi à conférer à *Bacterium phlei* des qualités hautement pathogènes par inoculation sous-cutanée. Leurs travaux, qu'ils nous permettent de citer ici pour la compréhension des faits, feront de leur part l'objet d'une publication spéciale.

Nous nous sommes proposés de rechercher si ces divers sérum fixaient le complément en présence des antigènes tuberculeux de Boquet et Nègre et de Besredka.

Mais, point important qui domine tout le problème, nous nous sommes assurés systématiquement sur ces six organismes de l'absence de tuberculose. Trois de nos bêtes à entérite chronique hypertrophiante, non réagissante à la tuberculine épreuve intradermique sous-caudale), furent autopsiées : aucune lésion tuberculeuse ne put être décelée. La quatrième, également non réagissante à l'épreuve sous-caudale, ne présente à l'heure actuelle aucun signe de suspicion. Les deux veaux, inoculés avec le bacille de la phléole, n'ont jamais réagi à l'intradermo-tuberculination.

Tous ces sérum furent toujours prélevés avant la tuberculination.

Les résultats obtenus, soit avec l'antigène alcoolo-acétone, soit avec l'antigène à l'œuf, ont été en tous points concordants : la réaction de fixation est nettement et fortement positive ainsi qu'en fait foi le tableau suivant :

NUMÉRO	AUTOPSIÉ	TUBERCULINATION	ANTIGÈNE Boquet et Nègre	ANTIGÈNE Besredka
1. . . .	Pas de tuberculose.	»	++++	++
2. . . .	Id.	Pas faite.	++++	+++
3. . . .	Id.	Pas faite.	+++++	+++++
4. . . .	Encore vivante.	»	+++++	+++++
5. . . .	Encore vivant (Veau phéolisé).	»	++++	++++
6. . . .	Encore vivant (Veau phéolisé).	»	++++	++++

Nos essais confirment donc tout à fait les résultats obtenus avant nous par Bang et Andersen. Comment interpréter ces réactions de fixation positives, les antigènes d'une part et les anticorps d'autre part étant — du moins il est permis de le supposer — de nature essentiellement différente?

Point n'est besoin de rappeler ici l'analogie qui existe entre le bacille tuberculeux vrai, le bacille de Johne et le bacille de la phléole. Ces germes, de pathogénéité diverse, ont un caractère

qui les rapproche : par leur acido-résistance, par leur constitution chimique particulière, ils forment un groupement homogène. Ce qui les caractérise par rapport aux réactifs histochimiques, c'est — ainsi que l'ont montré Vallée, Goris, etc. — la présence de matières grasses et de lipoïdes dans les substances qui constituent le protoplasma cellulaire.

Les bacilles acido-résistants, dont nous avons étudié les réactions dans l'organisme, auraient donc, du fait de leur constitution intime, des propriétés antigéniques communes. Or, les antigènes que nous employons dans la méthode de déviation du complément renferment, comme Boquet et Nègre l'ont signalé (1), une substance de nature lipoïdique, *commune à plusieurs espèces microbiennes*, capables de provoquer *in vivo* la formation d'anticorps analogues à ceux que développe la lécithine de l'œuf.

Ces constatations éclairent d'un jour nouveau les qualités antigéniques communes des bacilles acido-résistants, rapprochent à ce point de vue les germes paratuberculeux des tuberculeux vrais, et permettent de comprendre comment les sérums de sujets atteints d'entérite chronique ou infectés de phléole renferment, aussi bien que les sérums d'animaux tuberculeux, des anticorps susceptibles de s'unir étroitement aux antigènes utilisés.

De plus nos essais suggèrent quelques observations inédites. Si, grâce à des lipoïdes spéciaux, encore mal connus, les germes acido-résistants, pathogènes ou non, impriment aux organismes qui les hébergent des propriétés spéciales, telles que les sérums de ces animaux fixent le complément en présence d'un antigène tuberculeux vrai, on peut en inférer, à juste titre, semble-t-il, la non-spécificité de la réaction de fixation en matière de tuberculose des bovidés.

Nos expériences en sont une preuve typique. Il n'est pas possible ainsi de différencier, par le seul moyen de la méthode de déviation du complément, la tuberculose bovine de l'entérite chronique hypertrophiante ou de certaines infections expérimentales à bacilles acido-résistants.

(1) BOQUET et NÈGRE, Sur les propriétés antigéniques des extraits alcoolométhyliques des bacilles de Koch et des lécithines. *C. R. de la Soc. de Biol.* 1^{er} avril 1922.

Nous venons de nous rendre compte que le pouvoir, présenté par les divers antigènes tuberculeux, de fixer l'alexine en présence d'un sérum tuberculeux est fonction des lipoïdes bacillaires ou des complexes de ces lipoïdes, lesquels, par leurs caractères de solubilité, se rapprochent du groupe des phosphatides (Nègre et Boquet).

D'où l'idée de comparer le pouvoir de fixer le complément chez les antigènes tuberculeux vrais, d'une part, et, d'autre part, chez d'autres antigènes renfermant des lipoïdes identiques ou des lipoïdes se rapprochant de ceux qu'on rencontre dans les antigènes tuberculeux proprement dits.

D'où l'idée encore de comparer (ainsi que nous l'avons fait), à l'égard d'un même antigène tuberculeux, le sérum d'animaux infectés, naturellement ou expérimentalement, au moyen de bactilles dont la constitution chimique se rapproche de celle du bacille tuberculeux authentique (groupe des germes acido-résistants).

De nombreux auteurs : Massol et Grysez (1), Boquet et Nègre (2), Urbain (3) ont montré que les bactilles tuberculeux aviaires, pisciaires ; les germes paratuberculeux (Korn, Grassberger, Möller, Phléole, etc.) ; le bacille diphtérique, servant d'antigène, fixent aussi le complément en présence de sérum tuberculeux.

Pour Massol et Grysez en particulier, le bacille diphtérique, dont la constitution chimique se rapproche de celle des bactilles de Koch, fixe des anticorps produits par ces derniers, et inversement : le sérum de chevaux immunisés contre la toxine diphtérique donne une réaction de fixation positive avec le bacille tuberculeux.

En présence de pareils faits on conçoit que la nature des antigènes ainsi utilisés incite à douter de plus en plus de la spécificité de la réaction de fixation dans la tuberculose.

Et une analogie troublante se présente tout aussitôt en nos esprits. Déjà la réaction de Bordet-Wassermann, en matière de syphilis humaine, a été dissociée des phénomènes qui reposent essentiellement et uniquement sur les interactions anti-

(1) MASSOL et GRYSEZ. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1914, p. 428.

(2) NÈGRE et BOQUET. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1920, p. 360.

(3) URBAIN. Ces *Annales*, juin 1922.

gènes-anticorps. Est-ce que la réaction de fixation dans la tuberculose ne serait pas un phénomène physique de même nature ou de même ordre? Nous poursuivons des recherches sur ce point particulier, mais dès maintenant nous tenons à montrer un aspect du problème.

Et peut-être pourrait-on dire du sérum tuberculeux ce que Rubinstein (1) écrivait du sérum syphilitique :

« Les substances auxquelles le sérum tuberculeux doit ses propriétés d'annihiler l'action de l'alexine en présence d'un antigène sont dues à un changement d'équilibre du plasma (sérum) sanguin provoqué par la présence, dans l'organisme, du bacille tuberculeux.

« Cette action d'antigènes et de sérums à colloïdes labiles, se faisant en présence des colloïdes du sérum alexique, est suivie de la destruction de cette alexine ; destruction sur la nature de laquelle nous sommes peu renseignés, mais qui se laisse apprécier le mieux par le phénomène de l'hémolyse. »

V. — Réaction de fixation et injection de tuberculine chez les bovidés.

De nombreux auteurs se sont préoccupés de savoir si l'injection de tuberculine, pratiquée chez différents organismes, humains ou animaux, sains ou tuberculeux, amenait la formation consécutive d'anticorps spécifiques.

La question a été particulièrement bien étudiée chez l'homme tuberculeux. Wassermann et Brücke (2) ; Calmette, Massol et Mézie (3) ont montré que les injections de tuberculine favorisent la production des anticorps chez les sujets infectés et augmentent la richesse de leurs sérums en ces éléments.

La réaction de fixation au moyen des antigènes tuberculeux, de Boquet et Nègre d'une part, de Besredka d'autre part, constitue un test commode pour évaluer la production (ou la non-production) d'anticorps après toute inoculation tuberculinique. C'est cette méthode de recherche que nous avons adoptée.

(1) RUBINSTEIN. *Traité pratique de sérologie et de séro-diagnostic*, Maloine, 1921.

(2) WASSERMANN et BRÜCKE. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1906.

(3) CALMETTE, MASSOL et MÉZIE, Recherche et dosage des sensibilisatrices tuberculeuses, ou anticorps, au cours de la tuberculinothérapie par diverses tuberculines. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 13 juillet 1912.

Nous allons étudier successivement, au cours de ce chapitre, si l'injection de tuberculine :

- 1^o Provoque la formation d'anticorps chez les bovidés sains ;
- 2^o Augmente la richesse en anticorps des sérum des bovidés tuberculeux.

Calmette (1) s'exprime ainsi dans son traité magistral : « Sans doute on arrive bien à sensibiliser des animaux sains en les préparant par des injections (surtout intraveineuses) de fortes doses de tuberculine ». Mais l'auteur ne nous dit pas si cette sensibilisation d'un organisme non infecté s'accompagne de la production d'anticorps tuberculeux.

Nous avons d'abord recherché par la méthode de la déviation du complément, si le sérum de certains bovidés renfermait des anticorps tuberculeux.

Lorsque la réaction était négative nous tuberculinions ces animaux, soit par le procédé classique de l'inoculation sous-cutanée de 5 cent. cubes de tuberculine diluée au 1/10, soit par le procédé de l'intradémo-tuberculination à la base de la queue (1/10 de cent. cube de tuberculine au quart).

Nous cherchions ensuite, sur les animaux non réagissants à l'épreuve tuberculinaire, les caractères de la réaction de fixation pratiquée à intervalles réguliers après la tuberculination (2).

Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau suivant.

Ce tableau appelle quelques commentaires.

Nous constatons d'abord que l'injection de tuberculine, effectuée selon les règles et au moyen des doses classiques, ne provoque pas la formation d'anticorps spécifiques dans l'organisme sain, et ce, quel que soit le moment où l'on cherche à déceler leur apparition.

Que la réaction de fixation soit en effet pratiquée peu de temps après l'épreuve à la tuberculine (deux et six jours) ou qu'on laisse à l'économie le temps normal de réagir en fabriquant les substances spécifiques (sept, dix et douze jours), aucun anticorps n'apparaît dans les sérum des sujets sains tuberculins.

(1) CALMETTE, L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux domestiques, p. 445.

(2) La tuberculine qui nous a servi au cours de nos essais est celle livrée par l'Institut Pasteur de Paris pour le diagnostic de la tuberculose des bovidés.

La vache n° 12 est caractéristique à cet égard ; ni dix jours, ni vingt et un jours, ni trente et un jours après l'inoculation de tuberculine, on ne put mettre d'anticorps en évidence. Nous sommes donc autorisés à conclure que la tuberculine ne pro-

NUMÉRO des vaches	RÉACTION de FIXATION avant la tuber- culinat	1 ^e réaction de fixation	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuber- culinat et la 1 ^e réaction de fixation	2 ^e réaction de fixation	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuber- culinat et la 2 ^e réaction de fixation	3 ^e réaction de fixation	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuber- culinat et la 3 ^e réaction de fixation
1 . .	—	—	14 jours.	»	»	»	»
2 . .	—	—	14 —	—	»	»	»
3 . .	—	—	14 —	—	18 jours.	»	»
4 . .	—	—	2 —	—	12 —	»	»
5 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
6 . .	—	—	10 —	»	»	»	»
7 . .	—	—	19 —	»	»	»	»
8 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
9 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
10 . .	—	—	12 —	»	»	»	»
11 . .	—	—	20 —	»	»	»	»
12 . .	—	—	10 —	—	21 jours.	—	31 jours.
13 . .	—	—	7 —	—	12 —	»	»
14 . .	—	—	6 —	—	»	»	»
15 . .	—	—	7 —	—	12 jours.	»	»
16 . .	—	—	7 —	—	12 —	»	»
17 . .	—	—	7 —	—	12 —	»	»

voque pas l'apparition d'anticorps spécifiques chez les individus sains qui la reçoivent au titre du diagnostic.

La dose semble posséder peu d'influence : une dose aussi infime que 1/10 de cent. cube de tuberculine diluée au quart; une dose forte comme 5 cent. cubes de tuberculine au 1/10 se révèlent également impuissantes.

Il resterait à chercher l'influence sur la formation des anticorps des tuberculinations répétées. Nous nous proposons de poursuivre nos recherches en la matière, en vue d'élucider ce point spécial.

Signalons, avant de conclure, la différence qui existe entre les qualités antigéniques de la tuberculine et de la malléine, au point de vue de leur action chez les organismes sains. Ici

(malléine) le produit fait apparaître presque toujours une sensibilisatrice dans le sang des chevaux non infectés de morve (1). Là, au contraire (tuberculine), la substance se comporte comme un corps inerte dans l'organisme. Le contraste était intéressant à mettre en lumière.

En ce qui concerne les sujets tuberculeux, on sait au contraire que la tuberculine — ou mieux les diverses tuberculines — favorisent parfois au plus haut point la production d'anticorps.

Nos expériences parlent dans le même sens et sont résumées de la façon la plus nette dans le tableau qui suit :

La lecture de ce tableau suggère quelques observations : l'injection de tuberculine favorise dans l'organisme infecté la production des anticorps spécifiques.

C'est environ douze jours après la tuberculination que le taux des anticorps dans les sérums se montre le plus élevé. Puis ce taux ou bien reste stationnaire, ou bien décroît dans les jours qui suivent.

Quelle part faut-il accorder à l'injection d'une dose unique de tuberculine ou à la pratique de tuberculinations souvent répétées dans l'accroissement de la richesse des sérums en anticorps ? Nous ne pouvons répondre à ce sujet, puisque nous n'avons jamais renouvelé chez les sujets une première fois sollicités les tuberculinations par l'un ou l'autre mode. Il est donc permis de conclure ainsi (2) : la tuberculine se conduit comme la malléine ; elle augmente de façon notable le taux des anticorps chez les animaux tuberculeux.

Nous voudrions attirer tout particulièrement l'attention sur la vache n° 22 de notre tableau. Ce sujet — sain de par l'examen tuberculistique, sans lésions spécifiques, apparentes ou occultes à l'autopsie — donna en tous les cas une réaction de fixation nettement positive, qui fut exacerbée comme nous l'indiquons, à la suite de l'injection intradermique de tuberculine. Les veaux 23 et 24 sont également intéressants à plus d'un titre. Injectés dans le derme du pli caudal avec 1/10 de cent. cube d'un extrait de *Bacterium phlei*, ils donnent une réaction posi-

(1) BROcq-ROUSSEAU, P. FORGEOT et URBAIN, Sur la formation des anticorps à la suite des injections de malléine. Ces Annales, 1921, p. 879.

(2) BROcq-ROUSSEAU, FORGEOT et URBAIN, *loc. cit.*

N°	RÉACTION de FIXATION avant la tuberculisation	TUBERCULINATION sous-cutanée	PREMIÈRE RÉACTION de FIXATION après la tuberculisation	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuberculisation et la 1 ^{re} réaction de fixation	DEUXIÈME RÉACTION de FIXATION	TEMPS ÉCOULÉ entre la tuberculisation et la 2 ^e réaction de fixation
18	+	+ { Réaction thermique 1 ^o 9.	++	10 jours.	++	21 jours.
19	-	+ { Réaction thermique 1 ^o 5.	++	12 —	+	21 --
TUBERCULINATION intradermique sous-caudale						
20	+	+++	++	12 —	"	"
21	++	++	++++	12 —	"	"
22	++++	-	+++++	10 —	++++++	21 jours.
VEAUX infectés avec <i>Bacterium phlei</i>						
23	++++	+	+++++	6 —	"	"
24	++++	+	+++++	6 —	"	"

tive et l'insertion de l'extrait de phléole augmente le taux des anticorps dans le sang circulant.

Donc, en résumé, nous dirons avec Calmette que les injections de tuberculine augmentent la richesse des sérums en anticorps spécifiques.

* * *

Le mécanisme de la réaction à la tuberculine des organismes infectés s'éclaire peut-être à la lumière des faits que nous venons d'exposer.

La tuberculine introduite chez un individu bacillisé rencontra dans l'économie — si l'on veut bien se reporter aux travaux de M. Nicolle (1) et admettre ses concepts — une lysine préformée.

L'anticorps lytique décompose la tuberculine, extrait de ce poison brut un poison vrai, plus ou moins toxique, lequel détermine les accidents inflammatoires locaux, généraux et fébriles que chacun connaît.

Mais ce poison vrai n'est peut-être pas le seul produit résultant de la lyse de la tuberculine à l'intérieur du corps. Cette lyse de l'endotoxine tuberculeuse (selon l'expression de Calmette) donne naissance à d'autres substances que nous ne connaissons pas et qui ont probablement une fonction antigène bien développée — puisque la quantité d'anticorps croît dans les organismes infectés après l'injection tuberculinaire.

Chez les sujets sains, au contraire, la tuberculine se comporte comme un bloc inerte, puisque nulle lysine ne vient décomposer le produit. Et l'antigène inconnu, que l'organisme infecté sait dévoiler à la faveur d'une action lytique préalable, reste caché chez le sujet sain dans le produit complexe qu'est la tuberculine, impuissante ainsi à provoquer la formation d'anticorps. C'est ce que nous prouve la réaction de fixation, mais il est possible — et sur ce point particulier nous ne saurions conclure — que l'inoculation répétée de tuberculine à des organismes sains amène la réalisation d'anticorps spécifiques.

Cette conception du mécanisme intime de la réaction tuberculinaire jette aussi quelque clarté sur certaines observations. « Il est facile de constater, dit le professeur Calmette (2), que les sérum les plus riches en anticorps n'ont aucune propriété neutralisante *in vitro* vis-à-vis des tuberculines. »

Si, comme nous le pensons, c'est bien l'anticorps lytique qui préside à la scission, dans l'économie infectée, de la tuberculine en ses éléments principaux (actif et non antigène, inactif et antigène), on conçoit qu'*in vitro* la même dissociation — ou tout au moins une ébauche de cette dissociation — se produise.

(1) M. NICOLLE, Conception générale des anticorps et de leurs effets. *Ces Annales*, 1908.

(2) CALMETTE, *loc. cit.*, p. 509.

Le sérum, loin de neutraliser la tuberculine, en prépare en quelque sorte l'action.

Il doit y avoir une relation étroite entre le moment où apparaît l'aptitude réactionnelle à la tuberculine et la première formation des anticorps — ou seulement de certains anticorps — dans le sérum des sujets bacillisés.

Les méthodes de réaction de fixation, chaque jour plus sensibles, permettront peut-être, dans un avenir prochain, d'éclaircir ce point. Disons simplement que pendant longtemps on a cru à l'absence d'anticorps spécifiques lors de tuberculoses chirurgicale, osseuse, etc. Tout récemment Moser et Fried (1) ont montré qu'il n'en était rien.

En définitive, la tuberculine se comporterait dans l'organisme bacillé comme si elle réalisait l'union de deux éléments : l'un, inactif et antigène ; l'autre, actif (toxique, hyperthermiant, etc.) et non antigène (2).

Dans l'organisme sain, au contraire, les deux éléments ne sont pas dissociés par l'anticorps lytique et la tuberculine se comporte comme un bloc inerte, à la fois non actif et non antigène.

VI. — Valeur de la réaction de fixation dans la tuberculose des bovidés.

Quelle est, en définitive, la valeur de la réaction de fixation dans le diagnostic de la tuberculose des bovidés ? Les conclusions suivantes de Küss et Rubinstein (3) reflètent assez exactement notre pensée. « La réaction de fixation fournit des renseignements précieux pour la diagnose. »

« Une réaction négative ne permet point de rejeter l'idée de tuberculose, mais une séro-réaction positive est un argument de grande valeur en faveur de l'existence d'une lésion tuberculeuse ayant un certain degré d'activité. »

Tout en nous associant à cette formule, nous y ferons cepen-

(1) FRIED et MOSER, Réaction de fixation à l'antigène de Besredka dans la tuberculose externe. Ces *Annales*, 1921, p. 388.

(2) M. NICOLLE et CÉSARI, Colloïdes, catalyse, antigènes, anticorps. Ces *Annales*, 1922, p. 463.

(3) KÜSS et RUBINSTEIN, cité dans RUBINSTEIN. *Traité pratique de sérologie et de séro-diagnostic*, p. 314.

dant une réserve importante. Les affections à bacilles acido-résistants, l'entérite chronique hypertrophiante des bovidés en particulier, imposent beaucoup de prudence dans l'interprétation des résultats d'une réaction de fixation. Il est parfois difficile de différencier cliniquement ces processus morbides ; la séro-réaction ne permet pas d'éclairer le praticien et d'assurer un diagnostic certain.

Pour nous, vétérinaires, la méthode de la déviation du complément est d'une spécificité relative et limitée. Elle confond certaines affections que l'on sait distinctes, bien que voisines les unes des autres (tuberculose et diarrhée chronique) ; il est infiniment probable qu'elle ne décèle pas toutes les bacillisations occultes ou encore les lésions étroitement localisées ou en voie de régression.

Chez les bovidés, comme chez l'homme, une réaction positive plaide en faveur « de l'existence d'une lésion tuberculeuse ayant un certain degré d'activité. »

Peut-être alors la déviation du complément, moins banale, moins étendue que les procédés de tuberculination, pourrait-elle servir à déceler la tuberculose chez les vaches laitières ? Seraient éliminées des troupeaux laitiers, non plus toutes les femelles réagissant à la tuberculine, mais toutes celles dont la réaction de fixation serait fortement positive en présence d'un antigène tuberculeux.

Nous ne pensons pas cependant, contrairement à Hruska et Pfenninger, que le procédé soit appelé à rendre de grands services dans la lutte contre la tuberculose bovine et l'éradication de ce fléau. La tuberculine aura toujours les préférences du praticien.

Toutefois dans la méthode de prophylaxie qui consiste à déceler uniquement les formes ouvertes (méthode dite de Siedamgrotsky-Ostertag), on pourrait peut-être substituer, à la recherche des tuberculoses ouvertes par l'examen clinique et bactériologique, l'étude des sérums suspects par le procédé de Bordet-Gengou. Mais des essais nombreux sont encore nécessaires pour préciser, d'une part les indications et le mode opératoire d'une pareille technique, d'autre part le nombre des sujets à éliminer d'après les résultats.

En résumé, telle qu'elle se présente à nous actuellement, la

déviation du complément est une méthode délicate dans sa technique et dans son interprétation. Küss et Rubinstein ont insisté d'ailleurs sur la difficulté de juger du résultat de la réaction lorsqu'elle est atténuée, bien que faite avec une irréprochable technique.

De plus, la méthode nécessite des opérateurs éprouvés, un matériel compliqué, de nombreux produits que seul peut se procurer le laboratoire. Ces raisons si diverses: spécificité relative, technique complexe et coûteuse, difficultés d'exécution, font que la réaction de fixation restera, longtemps encore, une méthode qu'utiliseront seulement les laboratoires spécialisés ou les instituts techniques.

Comme le dit Calmette dans son traité, la déviation du complément ne constitue pas seulement une réaction de la tuberculose-maladie, mais aussi et d'une manière plus générale une réaction de la tuberculose-infection. C'est ce qui, selon nous, en restreindra l'emploi, et fera que les injections de tuberculine jouiront longtemps encore, dans le domaine de la médecine vétérinaire, de la faveur justifiée des praticiens.

VII. — Conclusions.

De l'ensemble des faits qui précédent, il est permis de tirer les conclusions suivantes :

1^o Les sérum des bovidés tuberculeux fixent l'alexine en présence de l'antigène de Boquet et Nègre et de l'antigène de Besredka. La réaction est positive dans 90,5 p. 100 des cas.

2^o Les sérum des bovidés cliniquement indemnes de tuberculose et ne réagissant pas à la tuberculine donnent une réaction de fixation négative dans 88,8 p. 100 des cas.

3^o Les sérum à étudier doivent être inactivés par chauffage d'une demi-heure à 60°. On diminue ainsi notablement le pouvoir anticomplémentaire spontané de certains sérum.

4^o Les antigènes de Boquet et Nègre et de Besredka ont à peu près la même sensibilité au regard des sérum de bovidés, sains ou tuberculeux. Peut-être celui-ci (Besredka) est-il un peu moins sensible que celui-là (Boquet).

5^o Le vieillissement, de deux à vingt et un jours, des sérum

à la glacière n'altère pas leur richesse en anticorps spécifiques. Leur pouvoir anticomplémentaire ne semble pas, non plus, augmenté de ce fait.

6^e Une réaction de fixation négative, chez des bovidés tuberculeux ou réagissants à la tuberculine, tient peut-être, comme l'a montré le professeur Calmette, à l'absence d'anticorps dans leur sérum.

7^e Les sérums des bovidés tuberculeux, non traités par la tuberculine, sont pauvres en anticorps ; le taux oscille entre 10 et 20 unités (mesurées selon la technique de Calmette et Massol).

8^e Chez les bovidés sains, l'injection unique de tuberculine — aux doses employées couramment dans le diagnostic de la tuberculose bovine — ne provoque pas la formation d'anticorps.

9^e Chez les bovidés tuberculeux, les mêmes doses de tuberculine, en injection unique, augmentent d'une façon notable le taux des anticorps spécifiques.

10^e Cette augmentation a lieu surtout du douzième au quinzième jour qui suit l'inoculation de tuberculine et varie probablement avec la dose injectée.

11^e Contrairement à ce qui se passe en matière de morve, on peut associer en tout temps la réaction de déviation du complément aux diverses méthodes de tuberculination dans le diagnostic expérimental de la tuberculose des bovidés.

12^e Il ne semble pas y avoir de relation entre la richesse en anticorps des sérums de bovidés tuberculeux et l'intensité de la réaction tuberculinaire.

13^e Confirmant les conclusions d'Armand-Delille, nous dirons que la réaction de fixation et la réaction à la tuberculine n'ont pas la même signification chez les bovidés tuberculeux.

14^e Par contre, un certain parallélisme semble exister entre la fréquence des résultats positifs dans la réaction de fixation et l'étendue du processus morbide.

15^e La déviation du complément serait parfois en rapport avec la résistance de l'organisme tuberculeux. Ainsi, chez une vache infectée, la réaction devint négative dans les jours qui précédèrent la mort.

16^e Les sérums d'animaux atteints d'entérite chronique

hypertrophiant dévient le complément en présence de l'antigène de Boquet et Nègre et de l'antigène de Besredka.

17^o La méthode de Bordet-Gengou, appliquée au diagnostic de la tuberculose des bovidés, est, partant, d'une spécificité relative et limitée.

18^o La réaction de fixation est d'autant plus nette qu'il s'agit d'un processus tuberculeux en activité ou de lésions en voie d'évolution.

Il en résulterait que :

a) La méthode pourrait être appliquée au diagnostic de la tuberculose des vaches laitières ;

b) Elle mériterait d'être préconisée dans la prophylaxie sanitaire de la tuberculose, suivant la méthode d'Ostertag.

On éliminerait les individus donnant une réaction de fixation positive forte.

19^o Nous poursuivons des recherches en ce qui concerne la valeur de la déviation du complément dans la recherche de la tuberculose des carnivores domestiques.

* * *

Avant de terminer ce mémoire, nous sommes heureux d'adresser nos plus vifs remerciements à M. le professeur Vallée, directeur du Laboratoire de recherches des services vétérinaires de l'Etat, pour l'aide précieuse que nous avons toujours trouvée près de lui; à M. le professeur Moussu qui a bien voulu mettre à notre disposition trois vaches atteintes de diarrhée chronique; à M. le professeur Besredka et à MM. Boquet et Nègre, de l'Institut Pasteur de Paris, pour les matériaux de travail qu'ils n'ont pas cessé un seul instant de nous prodiguer; à M. le vétérinaire-major Urbain qui a initié l'un de nous aux détails de la technique de la réaction de fixation (méthode de Besredka); à MM. E. Grasset et Mario de Oliveira dont la collaboration nous fut d'un grand secours durant toutes nos recherches.

(Ecole vétérinaire d'Alfort.)

LES MOUCHES TSÉTSÉS DANS L'OUEST AFRICAIN

DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE — HISTOIRE — RÔLE PATHOGÈNE

par E. ROUBAUD.

I. — La distribution géographique des tsétsés.

Avant de passer à une étude biologique rationnelle des tsétsés ou glossines, dans la forme où il convient de la concevoir, pensons-nous, pour bien saisir les conditions de leur rôle pathogène, il faut tout d'abord les situer géographiquement ainsi que les différentes affections qu'elles transmettent. C'est l'objet du document cartographique joint à ce travail.

Au cours des différentes missions dont nous avons été chargés, le Dr G. Bouet et moi, de 1906 à 1916, par le gouvernement général de l'Afrique Occidentale française, ou par l'Institut Pasteur, nous avons pu recueillir les éléments nécessaires à l'établissement d'une Carte générale de la Distribution des mouches tsétsés et des maladies à trypanosomes dans nos colonies de l'Ouest africain. Nos itinéraires, dont le tracé sur la carte est indiqué par un trait plein, épais, continu, portent en effet sur *une dizaine de milliers de kilomètres* dans leur ensemble et couvrent près des deux tiers de l'Afrique Occidentale française. Aux données que nous avons ainsi recueillies au cours de prospections attentives, faites tantôt en commun, tantôt isolément, nous avons ajouté celles qui résultent des observations d'auteurs divers, en particulier de G. Bouffard, A. Chevalier, H. Hubert, G. Martin, G. Pécaud, Thiroux et ses collaborateurs ; celles aussi qu'il nous a été possible de recueillir, soit en étudiant les collections du Muséum de Paris ou de l'Institut Pasteur, du *British Museum* ou de l'Ecole de Liverpool, soit dans les traités spéciaux.

Une carte générale laissant de côté les colonies étrangères de l'Ouest africain eût été forcément fragmentée dans sa documentation et peu expressive. Fort heureusement, les nom-

breux travaux publiés notamment par les observateurs anglais nous ont permis de combler la plus grande partie des lacunes qui se furent ainsi présentées. Nous avons fait appel, entre autres, aux publications de Dutton et Todd (1), pour la Gambie anglaise, de Simpson pour la Gambie (2) et le Sierra Leone (3), de ce dernier auteur (4) et de Kinghorn (5) pour la Gold Coast et l'Ashanti, de Scott Macfie (6) pour la Nigeria, etc. De cette manière l'ensemble se complète et se concrétise : les principes généraux de la distribution géographique apparaissent avec une continuité plus favorable. Seules, l'absence ou l'insuffisance de renseignements pour la Guinée portugaise et le Liberia, jusqu'ici peu explorés au point de vue qui nous occupe, nous ont obligé à laisser à peu près en blanc l'étendue de ces territoires qui sont cependant, sans conteste, entièrement placés dans la zone d'influence des glossines.

En ce qui concerne la répartition géographique des maladies à trypanosomes qui, en Afrique Occidentale, exception faite pour les trypanosomiases sahariennes, est toujours superposable à celle des tsétsés, il eût été intéressant de faire figurer également dans les provinces étrangères les indications relatives aux différents virus rencontrés. Malheureusement, la diversité très regrettable qui règne actuellement dans la nomenclature au sujet des affections trypanosomiennes animales, en dehors de nos colonies, ne nous a pas permis d'utiliser de la même manière que pour les glossines les documents étrangers relatifs à ces affections. Pour la trypanosomiasis humaine, cependant, au sujet de laquelle l'accord est plus facile à faire, nous avons reporté les principales indications de répartition nécessaires.

Sans tenir compte des races ou des variétés dont l'intérêt n'existe pas dans un document de ce genre, nous avons reconnu la présence, en Afrique Occidentale, de neuf espèces différentes de glossines et de six virus trypanosomiens, dont quatre sont transmis spécifiquement par ces mouches, les deux

(1) *Bull. of Entom. Res.*, 2, octobre 1911.

(2) *Ibid.*, novembre 1913.

(3) *Ibid.*, 1911.

(4) *Ibid.*, mai 1913.

(5) *Ibid.*, avril 1914.

(6) *Ibid.*, mai 1913.

autres (Surra et Tahaga) sévissant en dehors de la zone d'influence de celles-ci. Les localités où a été constatée à coup sûr l'existence d'une espèce déterminée de glossine sont marquées par un signe arrondi dont l'ornementation diffère pour chaque espèce, ainsi que l'établit la légende. Nous avons différencié par un cercle de plus grand diamètre les grandes espèces du groupe *fusca-tabaniformis*, des espèces courantes de taille plus réduite. Quant aux virus, ils sont notés chacun par une lettre initiale de la façon suivante : *S* pour l'agent de la maladie du sommeil, *C* pour *Tr. Cazalboui*, *D* pour *Tr. dimorphon*, *P* pour *Tr. Pecaudi*, *E* pour *Tr. Evansi*, *T.* pour *Tr. Soudanense* agent du Tahaga. Lorsqu'il s'agit d'un virus constaté dans une zone où il n'est pas normalement endémique, c'est-à-dire d'un cas d'importation probable, nous faisons surmonter la lettre initiale d'un trait horizontal : \bar{S} , \bar{C} , etc.

La présence, en abondance, du gros gibier dans une région donnée a toujours une certaine importance dans les régions à tsétsés. Elle indique en effet presque à coup sûr une multiplication très grande des mouches et tout particulièrement d'une d'entre elles, la *Glossina morsitans*, spécialement néfaste aux troupeaux domestiques. Aussi avons-nous indiqué par de petites croix, sur la carte, les régions particulièrement riches en gibier, qui sont du même fait à peu près interdites aux animaux domestiques.

En dehors des lieux de capture exacte constatés par nous-même ou par d'autres collaborateurs, nous avons également tenu à représenter par des hachures la zone d'extension, considérée comme *probable*, des quatres principales espèces de glossines ouest-africaines : *Gl. palpalis*, *Gl. tachinoïdes*, *Gl. longipalpis* et *Gl. morsitans*. Pour chacune de ces espèces nous avons adopté un système spécial de hachures ainsi que l'indique la légende.

Ces zones d'extension probable doivent être considérées comme les zones d'influence, au moins saisonnière, de l'espèce considérée. Elles n'impliquent nullement la présence constante toute l'année de la glossine en tout point de la zone envisagée. Mais elles font ressortir la probabilité d'existence, à quelque période de l'année, des glossines en ce point, et permettent de fixer ainsi, d'après nos connaissances actuelles sur la question, les grands traits de la distribution des principales espèces.

II. — Les zones à tsétsés de l'Afrique Occidentale.

La distribution géographique générale des tsétsés, dans l'Ouest africain, doit être étudiée en tenant compte des grandes subdivisions géobotaniques de ce territoire. Les glossines sont en effet, comme nous le montrerons, attachées à certains facies de végétation qui sont eux-mêmes la traduction en général de grandes actions climatériques. A ce point de vue, on peut distinguer en Afrique Occidentale trois grandes zones botaniques principales. Ce sont, du sud au nord, la zone de la *Grande Forêt*, localisée au voisinage de la côte; celle des *Galerie Forestières* qui prolonge au cœur des *Savanes soudanaises* et *guinéennes* la végétation forestière, sous la forme de galeries ou de couloirs boisés le long des rives des cours d'eau; enfin, la zone *sahélienne* ou zone des Epineux, caractérisée par des peuplements d'acacia à gomme et de jujubiers dont l'importance décroît au fur et à mesure que l'on se rapproche du Sahara. Les limites de ces grandes subdivisions géobotaniques : la Forêt, les Savanes soudanaises et guinéennes, les Epineux, sont reportées sur notre carte, en grande partie d'après les indications fournies par A. Chevalier (1). On peut ainsi se rendre compte des relations existant entre les grandes provinces botaniques et les différentes espèces de mouches.

En particulier, la limite d'extension vers le nord des Savanes à galeries, soudanaises et guinéennes, apparaît comme représentant sensiblement celle de l'extension septentrionale absolue des zones à tsétsés. Toutefois, d'après nos observations personnelles, la limite réelle d'extension de ces mouches vers le nord est un peu moins élevée; elle coïncide avec un tracé à peu près semblable, mais plus méridional, qui correspond à la limite d'extension des cordons boisés continus, le long des cours d'eau.

Malgré la complexité apparente de notre tracé, on peut reconnaître que la dispersion géographique générale des principales espèces de tsétsés, en Afrique Occidentale, se présente exactement de la même manière que celle que nous avons précédemment fait connaître pour l'Afrique Équatoriale (2).

(1) Carte botanique, forestière et pastorale de l'Afrique Occidentale française. *La Géographie*, 26, 1912, carte en couleurs à 1/3.000.000.

(2) MARTIN, LEBŒUF et ROUBAUD. *La maladie du sommeil au Congo français*. Carte en couleurs hors texte. Paris, Masson, 1908.

Nous retrouvons, en effet, en Afrique Occidentale française les trois bandes principales superposées : une *bande méridionale* à *Gl. palpalis* qui renferme également, outre la zone de répartition de l'espèce de grande forêt *Gl. pallicera*, celle des grandes espèces du groupe *fusca-tabaniformis* ; une *bande moyenne* à *Gl. morsitans* et une bande *septentrionale* à *Gl. tachinoïdes*. Ces zones sont naturellement établies d'après la prédominance des espèces correspondantes, considérées ainsi comme espèces *caractéristiques* ; elles ne proscriivent nullement l'existence simultanée dans la même zone d'autres espèces plus secondaires.

Il faut ajouter à ces bandes d'espèces dominantes, pour l'Afrique Occidentale française, une zone à *Gl. longipalpis* qui s'intercale entre la zone à *palpalis*, côtière ou méridionale, et la zone à *morsitans*. Il est infiniment probable qu'une semblable zone doit se retrouver avec les mêmes relations géographiques en Afrique Equatoriale, mais les documents font actuellement défaut pour en préciser les limites. Il faut dire d'ailleurs que ces deux espèces de glossines, morphologiquement très voisines l'une de l'autre, ont été très fréquemment confondues par les observateurs, bien que cependant leur biologie, considérée surtout dans les rapports de ces espèces avec les cours d'eau, soit, comme nous l'avons établi, très nettement différente.

Dans leur ensemble, les zones à tsétsés de l'Afrique Occidentale sont comprises, au sens large, entre la côte vers 3° de latitude N, et 14° de latitude N. Mais leur limite septentrionale est loin d'obéir à un tracé régulier en latitude. Ce tracé-limite est très sinueux. Il correspond, d'après nos observations, à la limite d'extension de la végétation boisée continue du bord des cours d'eau, limite qui n'obéit pas elle-même à des principes géographiques précis, parce qu'elle est subordonnée à de multiples influences géologiques ou hydrographiques. C'est ainsi que l'on voit, dans la région nigérienne de Say, la zone des galeries forestières pousser le long du Niger une avancée curieuse, entraînant avec elle les zones à tsétsés correspondantes. Cette avancée est due à l'accident rocheux qui relève sporadiquement, dans la région dite du W nigérien, entre Boumba et Kirtachi, les rives basses et sablonneuses du fleuve.

De même, sur la côte nord-ouest du Sénégal, les Niayes,

grâce aux dunes parallèles qu'y ont développées les alizés, constituent une sorte de cordon forestier littoral permettant l'extension correspondante des glossines jusqu'à l'embouchure du fleuve, au voisinage de Saint-Louis (16° lat. N.).

D'une façon générale, l'Afrique Occidentale peut être considérée comme infestée par les glossines *dans près des deux tiers de sa superficie*. Seules, les régions sahéliennes, au nord des fleuves Sénégal et Niger, en sont dépourvues (savanes à buissons épineux de la Mauritanie et du Sahel). Parmi les territoires qui s'étendent au sud du cours de ces fleuves, on peut seulement considérer comme exempts de mouches les savanes épineuses du Ferlo et la boucle du Sénégal, le cours de ce fleuve depuis quelque distance de l'embouchure jusqu'à Bafoulabé, celui du Niger des abords de Koulikoro à Say, et la presque totalité de l'intérieur de la boucle de ce grand fleuve. Encore faut-il faire des réserves pour l'îlot de Dori, où Bouffard a constaté l'existence de la *Gl. palpalis*. Il semble bien qu'il s'agisse ici d'un îlot témoin, actuellement isolé des grandes zones par le dessèchement progressif de ces régions, sorte de rappel d'une extension passée, naguère beaucoup plus septentrionale encore, des glossines. Les influences désertiques, que l'on peut considérer comme en progression indiscutable dans les régions soudanaises septentrionales, si, dans l'ensemble, elles sont préjudiciables à la vie de ces régions, font cependant œuvre utile d'assainissement, comme nous le montrerons d'ailleurs plus loin, en exerçant sur l'extension des tsétsés une action prohibitrice radicale. Il faut malheureusement constater que, pris dans son sens absolu, le remède sans doute serait pire que le mal.

L'étendue de l'aire de dispersion en latitude des différentes espèces de glossines est très variable suivant les espèces. Les plus limitées géographiquement sont les espèces de grande forêt : *Gl. pallicera* et les grandes formes du groupe *fusca-tabaniformis*. La première, surtout, se confine très strictement à une faible distance de la côte (1). Dans l'ensemble, ces différentes espèces sont incluses dans les limites, marquées sur la carte, de la grande forêt vierge.

(1) Des observations encore inédites de G. Bouet permettent d'indiquer la présence de cette espèce dans les environs de Monrovia, au Liberia, avec *Gl. palpalis* et *Gl. fusca*.

L'espèce possédant la plus grande extension géographique est la *Gl. palpalis*. On la rencontre en effet depuis le littoral jusqu'à la limite extrême que nous avons donnée aux zones à tsétsés. Son aire de dispersion se superpose, à partir du 8° degré de latitude, à celle des espèces soudanaises, mais sa fréquence relative est de moins en moins grande au sur et à mesure que l'on s'élève vers le nord.

La *Gl. tachinoïdes*, véritable glossine du Soudan, est répandue de manière beaucoup plus dense que la *palpalis* dans toute la zone comprise au sud de la limite septentrionale des bordures forestières, jusque vers le 11° parallèle. Nous lui avons assigné comme limite occidentale, sensiblement le 40° de longitude W. Paris. Ce sont là les limites moyennes à l'intérieur desquelles l'espèce peut être rencontrée sensiblement toute l'année. Mais, sporadiquement, on peut aussi, suivant les saisons, constater sa présence beaucoup plus au sud. Au Dahomey, nous l'avons rencontrée en hivernage vers la latitude d'Abomey, pendant un temps, il est vrai, très court. Les auteurs anglais la signalent même plus bas encore.

Au sud de la grande zone à *tachinoïdes*, la *Gl. longipalpis* se présente suivant une bande, sans doute à peu près continue, qui s'étend en latitude entre le 6° et le 11° degrés Nord. Dans la partie méridionale de cette zone, l'espèce touche aux limites de la grande forêt, mais sans y pénétrer, semble-t-il, jamais, sauf accidents locaux. Cette glossine peut cependant être observée au voisinage de la côte en certains endroits, mais c'est à la faveur de coupures naturelles ou artificielles existant dans la barrière forestière. La grande forêt vierge ne s'étend pas en effet d'une manière homogène et continue suivant les limites théoriques qui lui sont assignées. En de nombreux endroits, surtout à l'ouest et à l'est de l'ensemble constitué par le Libéria et la Côte d'Ivoire, elle ne subsiste plus guère qu'à l'état d'îlots, séparés par des bandes de savanes boisées littorales. Bouet a cependant capturé la *Gl. palpalis*, en Côte d'Ivoire, entre Dimbokro et Bingerville, en pleine zone forestière, mais le long du rail. Il est vraisemblable que ce sont les mouvements des trains et les déboisements nécessités par l'établissement de la voie ferrée, qui ont permis l'accès de la mouche dans cette zone.

Les zones à *Gl. morsitans* sont plus septentrionales que les zones à *longipalpis*. Il est facile d'expliquer le fait par les caractères franchement xérophiles de l'espèce. D'autre part, cette Glossine, qui de toutes les espèces connues s'accorde le mieux d'un milieu sec, s'étend moins haut vers le nord que *Gl. tachinoïdes* et *Gl. palpalis*. Il y a là une constatation paradoxale en apparence. En réalité il faut comprendre que vivant exclusivement au voisinage des cours d'eau ombragés, les deux dernières espèces éprouvent moins directement que la *morsitans* les effets de la sécheresse. Quoique infiniment plus hygrophiles que la *morsitans*, elles peuvent se répandre plus loin que celle-ci qui vit dans les savanes, vers la zone sahélienne. Nous montrerons d'ailleurs que la résistance thermique de la *Gl. morsitans*, moindre que celle de la *Gl. tachinoïdes*, ne lui permet pas une avancée aussi septentrionale.

Nous connaissons en Afrique Occidentale française au moins quatre grandes régions où vit la *Gl. morsitans*. Ces régions sont marquées sur la carte par un contour en pointillé gras. Il est possible qu'elles soient unies entre elles de manière ininterrompue, mais les documents nous manquent pour l'affirmer.

La plus importante de ces zones à *morsitans* est celle qui couvre tout l'hinterland de la Guinée, la Haute-Casamance, la Haute-Gambie et les régions correspondantes de la voie ferrée de Thiès à Kayes, étudiées récemment par Bouet (1). Cette zone présente, comme avancée extrême vers l'ouest, un *témoin* de son ancienne extension continue. Ce témoin est constitué par la petite province du Niom-Bato sise entre les territoires du Saloum et de la Gambie. J'ai montré antérieurement (2) que les *fly-belts* à *morsitans* observés actuellement encore à l'état isolé dans cette région, ont dû se rattacher primitivement à la grande zone à *morsitans* de l'ouest. Ils en ont été séparés par les progrès de l'activité humaine, le défrichement et l'éloignement du gibier.

(1) G. BOUET, Contribution à l'étude des zones à glossines du Sénégal (région du chemin de fer de Thiès à Kayes). *Bull. Soc. Path. exot.*, 9, 1916, p. 802.

(2) E. ROUBAUD, Les zones à tsétsés de la Petite-côte et du Bas-Saloum (Sénégal). *Bull. Soc. Path. exot.*, 8, 10 mars 1915.

Les différentes zones à *Gl. morsitans* de l'Ouest africain ne sont d'ailleurs pas fixées sans doute d'une manière absolue dans leurs limites géographiques actuelles. Leurs relations étroites avec le gros gibier font que toutes les causes capables de faire varier la distribution géographique ou l'abondance relative de la grande faune sauvage influeront également dans le même sens sur la répartition des glossines de cette espèce. Les grandes épizooties, les chasses, la pénétration par voie ferrée sont appelées à modifier de façon sensible dans l'avenir la configuration et l'étendue relative des zones que nous avons tracées.

Toutes les espèces de glossines sont d'ailleurs susceptibles de présenter, au cours d'une même année, de grandes différences non seulement dans leur abondance relative, mais encore dans leur distribution géographique réelle. Du fait que l'on trouve mentionnée sur la carte l'existence d'une espèce dans une localité déterminée, on ne saurait déduire la présence constante de la mouche en ce point. L'inverse peut être également vrai : que la constatation précise d'une glossine n'ait pas été faite au cours d'un passage dans une localité, cela ne signifie pas qu'elle ne s'y rencontre ou ne s'y rencontrera jamais. Il existe en effet des facteurs de déplacement spontané des glossines, des courants de migration, pour les différentes espèces et dont nous étudierons les causes avant tout saisonnières. Nous avons indiqué par des flèches le sens des migrations pour les quatre espèces sus-mentionnées, dans la direction probable suivant laquelle ils donnent à l'espèce ses maxima d'extension. Nous reviendrons ultérieurement sur cette importante question.

(A suivre.)

Le Gérant : G. MASSON.



